

553, 979

235

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2004年11月4日 (04.11.2004)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2004/094633 A1

- (51) 国際特許分類⁷: C12N 15/09, C12P 21/02 (74) 代理人: 平木 祐輔, 外(HIRAKI, Yusuke et al.); 〒1050001 東京都港区虎ノ門一丁目17番1号 虎ノ門5森ビル 3階 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/005585
- (22) 国際出願日: 2004年4月19日 (19.04.2004) (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2003-116280 2003年4月21日 (21.04.2003) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人産業技術総合研究所 (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒1008921 東京都千代田区霞が関一丁目3番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 中島 信孝 (NAKASHIMA, Nobutaka) [JP/JP]; 〒0628517 北海道札幌市豊平区月寒東2条17丁目2番1号 独立行政法人産業技術総合研究所 北海道センター内 Hokkaido (JP). 田村 具博 (TAMURA, Tomohiro) [JP/JP]; 〒0628517 北海道札幌市豊平区月寒東2条17丁目2番1号 独立行政法人産業技術総合研究所 北海道センター内 Hokkaido (JP).
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: PROCESS FOR PRODUCING RECOMBINANT PROTEIN IN BACTERIUM BELONGING TO THE GENUS RHODOCOCOCCUS

(54) 発明の名称: Rhodococcus属細菌における組換えタンパク質を生産する方法

(57) Abstract: It is intended to provide an expression vector capable of constitutionally expressing a foreign gene in a bacterium belonging to the genus *Rhodococcus*. A constitutional expression vector for a bacterium belonging to the genus *Rhodococcus* wherein a DNA consisting of the base sequence of a mutated TipA gene promoter, which is a promoter having a mutation transferred into the -10 region sequence of a TipA gene promoter and can thiostrepton-independently and constitutionally express a gene located downstream thereof, and a promoter sequence for constitutionally expressing a foreign gene are each a base sequence of DNA as claimed in any of claims 1 to 3, and a ribosomal binding site sequence is located in the downstream and a multicloning site sequence allowing the transfer of a foreign gene is located in the still downstream.

(57) 要約: Rhodococcus属細菌中で外来遺伝子を構成的に発現し得る発現ベクターの提供。 TipA遺伝子プロモーターの-10領域配列に変異を導入したプロモーターであって、チオストレプトン非依存的に構成的に下流に存在する遺伝子を発現し得る変異TipA遺伝子プロモーターの有する塩基配列からなるDNAおよび外来遺伝子を構成的に発現するためのプロモーター配列が請求項1から3のいずれか1項に記載のDNAの有する塩基配列であって、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクローニング部位配列を含む、Rhodococcus属細菌用構成型発現ベクター。

WO 2004/094633 A1

明 細 書

Rhodococcus 属細菌における組換えタンパク質を生産する方法

技術分野

本発明は、*Rhodococcus* 属細菌中で外来遺伝子を発現し得る発現ベクターに関する。

また、本発明は、宿主細胞中で組換えタンパク質を発現することができる誘導型発現ベクターおよび構成型発現ベクター、および該ベクターを用いて組換えタンパク質を発現させる方法に関する。さらに、本発明は *Rhodococcus* 属細胞内で異なるベクター上にコードされる複数の遺伝子を同時に共発現する方法に関する。

背景技術

現在、真核生物由来のタンパク質を組換え体として大量調製するためには大腸菌を宿主とした発現システムが広く用いられている。これは該システムが扱いが容易でかつ最も研究が進んでいるからである (Weickert et al., Curr. Opin. Biotechnol. 7: 494-499 [1996])。

一方、本発明者は以前に *Rhodococcus erythropolis* も組換えタンパク質生産の宿主として用いることができることを示した (特開 2004-73032、特願 2002-235008)。*R. erythropolis* は 4℃ から 35℃ まで増殖可能な放線菌の一種で、この菌を宿主とした発現システムの最大の特徴は 4℃ など 10℃ 以下での組換えタンパク質生産が可能な点である。他の大腸菌やバチルス属細菌、酵母菌、Sf9 昆虫細胞 (Cereghino and Cregg, Curr. Opin. Biotechnol. 10 422-427 [1999]、Miller, Curr. Opin. Genet. Dev. 3 97-101 [1993]) を用いたシステムでは、10℃ 以下での組換えタンパク質生産は極めて困難である。10℃ 以下で組換えタンパク質を生産させることで、それまでは生産困難だったタンパク質、例えば宿主細胞の増殖を阻害するものや 30℃ 前後では不溶化するもの、低温に適応した生物由来のタンパク質、などを生産することが可能になった。

本発明者等は、pTip ベクターと呼ばれる一群の *Rhodococcus* 属細菌用発現ベク

ターを構築し、組換えタンパク質生産に用いていた（特開 2004-73032、特願 2002-235008）。これらベクターは、抗生物質チオストレプトンでその発現が誘導される *TipA* 遺伝子のプロモーターを含み、その下流に外来遺伝子（発現させるべき遺伝子）をクローン化するためのマルチクローニング部位（MCS）を含む。従って pTip ベクターは、チオストレプトン誘導型発現ベクターであり、これら発現ベクターで形質転換された *Rhodococcus* 属細菌においては、チオストレプトンが培養液中に添加されたときにのみ、外来タンパク質の生産が誘導される。

非特許文献 1

Weickert et al., Curr. Opin. Biotechnol. 7: 494-499 [1996]

非特許文献 2

Cereghino and Cregg, Curr. Opin. Biotechnol. 10 422-427 [1999]

非特許文献 3

Miller, Curr. Opin. Genet. Dev. 3 97-101 [1993]

発明の開示

上記のように本発明者らは、pTip ベクターと呼ばれる一群の *Rhodococcus* 属細菌用誘導型発現ベクターを構築し、組換えタンパク質生産に用いていたが、未だ 2 点開発すべき点が残されていた。

第 1 に、前記 pTip ベクターはすべて、*Rhodococcus* 属細菌内で自律複製するために必要な DNA 領域（複製起点等）が一つの内在性プラスミドに由来していたために、別々の外来遺伝子を含む複数の発現ベクターを同時に、安定に、*Rhodococcus* 属細菌内に共存させることは困難であった。これは同一の自律複製起点を持つ異種プラスミドが細菌内で共存できない、プラスミド不和合性（plasmid incompatibility）と呼ばれる現象によるもので、多くの細菌でこの現象が報告されている（Novick, Microbiol. Rev. 51 381-395 [1987]）。異種プラスミドを単一の細菌の菌体内で共存させることが出来れば、複数の組換えタンパク質を同時に生産することが出来る。例えば、20S プロテアソームと呼ばれるタンパク質複合体は α サブユニットと β サブユニットの 2 つのポリペプチドから構成されており、機能的な 20S プロテアソーム複合体を組換え体として生産する場合には、こ

れら 2 つのポリペプチドを共発現させなければならない。2 つのポリペプチドを単一細胞内で共発現させる際には、1 つの発現ベクターに複数の外来遺伝子を導入することによって、達成することも出来るが、ベクターのサイズが大きくなったり、制限酵素部位の都合上クローニング過程が複雑になったり、不便であることが多い。現在まで *Rhodococcus* 属細菌において、複数の発現ベクターを用いた組換えタンパク質の共発現系は W002/055709 に記載されたものが存在した。

第 2 に、*Rhodococcus* 属細菌の研究のためには、誘導型発現ベクターのみならず、構成型発現ベクターも重要なツールであるが、構成型発現ベクターが未開発であったことである。なお、既知の *Rhodococcus* 属細菌における構成型発現ベクターとしては、変異型ニトリルヒドラーゼ遺伝子プロモーターを用いたものや（特開平 9-28382、特開平 10-248578）、*rrn* プロモーターを用いたものが知られている（Matsui et al., Curr. Microbiol. 45 240-244 [2002]）。

Rhodococcus 属細菌の中には、PCB (polychlorinated biphenyl) や農薬等、様々な難分解性化合物を分解する菌株が多数知られており（バイオレメディエーション）（Bell et al., J. Appl. Microbiol. 85 195-210 [1998]）、また、ある菌株はアクリルアミド等有用な化合物を菌体内に蓄積させる事も知られていて、すでに工業生産に利用されている（バイオプロセス、バイオリアクター）（Yamada et al., Biosci. Biotech. Biochem. 60 1391-1400 [1996]）。従って、上述した 2 点の改良点が克服されれば、組換えタンパク質生産時のみならず、バイオレメディエーション、バイオプロセスの研究時においても *Rhodococcus* 属細菌用発現ベクターの利用性が増すと考えられる。

まず、プラスミド不和合性の問題を解決するためには、本発明者らが先に構築した pTip ベクターに用いていた *Rhodococcus* 属細菌内で自律複製するために必要な DNA 領域とは配列が違う同等の配列を新たに分離し、利用する必要がある。前記 pTip ベクターでは全て *R. erythropolis* JCM2895 株から分離した内在性プラスミド pRE2895（5.4 キロベースペア；以下 kb と略）のうち、自律複製に必要最小限な *RepAB* 遺伝子を含む領域（1.9 kb）を用いていた。従って、他の *R. erythropolis* 株から DNA 配列の異なる内在性プラスミドを分離し、新規発現ベクターを構築することとした。また、*Rhodococcus* 属細菌の形質転換体選択マーカ

一として、前記 pTip ベクターにおいてはテトラサイクリン耐性遺伝子のみ開発していたが、複数のプラスミドで形質転換するためには、別の抗生物質に対する耐性遺伝子を開発する必要がある。本発明者は、*R. erythropolis* DSM 313 株がクロラムフェニコールに対して耐性であることを見出し、耐性を付与している遺伝子を分離し、利用することとした。

さらに、構成型発現ベクター開発のため、*TipA* 遺伝子プロモーターに変異を導入し、構成的に、即ち、チオストレプトン非依存的に、外来遺伝子を発現せしめる変異体を作製することとした。

このようにして、pRE2895 が有する自律複製に必要な領域および誘導型の *TipA* 遺伝子プロモーターを有する前記 pTip ベクターの他に、新たに異なる自律複製するために必要な DNA 領域を有するベクターであって、*TipA* 遺伝子プロモーターを有しており誘導発現が可能なベクター、前記 pTip ベクターとは異なる自律複製するために必要な DNA 領域を有するベクターであって、*TipA* 遺伝子プロモーターに変異を導入したプロモーターを有しており構成的に発現が可能なベクター、および前記 pTip ベクターと同じ自律複製するために必要な DNA 領域および *TipA* 遺伝子プロモーターに変異を導入したプロモーターを有しており構成的に発現が可能なベクターを構築した。これらのベクターのうち自律複製するために必要な DNA 領域が異なる 2 種類のベクターであって、それぞれ異なる外来タンパク質をコードする遺伝子を含むベクターで一つの宿主を共形質転換することが可能であり、該共形質転換した宿主で該異なる外来タンパク質を同時に共発現させることが可能である。

すなわち、本発明は以下の通りである。

- [1] *TipA* 遺伝子プロモーターの -10 領域配列に変異を導入したプロモーターであって、チオストレプトン非依存的に構成的に下流に存在する遺伝子を発現し得る変異 *TipA* 遺伝子プロモーターの有する塩基配列からなる DNA、
- [2] -10 領域配列の変異が、CAGCGT 配列の TATAAT 配列への変異である [1] の DNA、
- [3] 配列番号 107 で表される塩基配列を有する、[2] の DNA、
- [4] 外来遺伝子を構成的に発現するためのプロモーター配列が [1] から [3] の

いずれかの DNA の有する塩基配列であって、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクローニング部位配列を含む、*Rhodococcus* 属細菌用構成型発現ベクター、

[5] 配列番号 101 に表される塩基配列を有する pNit-RT1、配列番号 102 に表される塩基配列を有する pNit-RT2、配列番号 105 に表される塩基配列を有する pNit-RC1、配列番号 106 に表される塩基配列を有する pNit-RC2、配列番号 99 に表される塩基配列を有する pNit-QT1、配列番号 100 に表される塩基配列を有する pNit-QT2、配列番号 103 に表される塩基配列を有する pNit-QC1、配列番号 104 に表される塩基配列を有する pNit-QC2、からなる群から選択される [4] の *Rhodococcus* 属細菌用構成型発現ベクター、

[6] *Rhodococcus* 属細菌が *R. erythropolis*、*R. fascians* および *R. opacus* からなる群から選択される、[4] または [5] の発現ベクター、

[7] さらに大腸菌用プラスミドの自律複製に必要な DNA 領域を含み、大腸菌中で複製可能な [4] から [6] のいずれかの発現ベクター、

[8] [4] から [7] のいずれかの発現ベクターを含む形質転換体、および

[9] [4] から [7] のいずれかの発現ベクターを用いて 4℃ から 35℃ の温度で組換えタンパク質を生産する方法。

さらに、本発明は以下の通りである。

[10] *Rhodococcus* 属細菌から単離された、ローリングサークル型の複製様式で複製し得る環状プラスミド、

[11] *Rhodococcus* 属細菌から単離された、ローリングサークル型の複製様式に必須な *Rep* 遺伝子、2 本鎖複製起点領域 DSO (double-stranded origin) および 1 本鎖複製起点領域 SSO (single-stranded origin) を有する [10] の環状プラスミド、

[12] ローリングサークル型の複製様式に必須な DNA の塩基配列が配列番号 90 に表される塩基配列の第 3845 位から第 5849 位の塩基配列である、[11] の環状プラスミド、

[13] 配列番号 90 に表される塩基配列を有する DNA または配列番号 90 に表される塩基配列を有する DNA に相補的な配列を有する DNA にストリンジェントな

条件下でハイブリダイズする DNA を有する [1 0] から [1 2] のいずれかのプラスミド、

[1 4] [1 0] から [1 2] のいずれかの環状プラスミドを含む形質転換体、

[1 5] ローリングサークル型の複製様式で複製し得るベクターであって、*Rhodococcus* 属細菌中で外来遺伝子を 4℃ から 35℃ の温度条件下で発現しうる発現ベクター、

[1 6] *Rhodococcus* 属細菌から単離された、ローリングサークル型の複製様式に必須な *Rep* 遺伝子、2 本鎖複製起点領域 DSO (double-stranded origin) および 1 本鎖複製起点領域 SS0 (single-stranded origin) を有する [1 5] の発現ベクター、

[1 7] ローリングサークル型の複製様式に必須な DNA の塩基配列が配列番号 90 に表される塩基配列の第 3845 位から第 5849 位の塩基配列である、[1 6] の発現ベクター、

[1 8] 外来遺伝子を発現誘導するための誘導型プロモーター配列、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクロニング部位配列を含む [1 5] から [1 7] のいずれかの発現ベクター、

[1 9] 発現誘導のための誘導型プロモーターが *TipA* 遺伝子プロモーターで、誘導物質がチオストレプトンである、[1 8] の発現ベクター、

[2 0] プロモーターの塩基配列が [1] から [3] のいずれかの DNA の有する塩基配列からなる [4] の発現ベクター、

[2 1] 配列番号 93 に表される塩基配列を有する pTip-RT1、配列番号 94 に表される塩基配列を有する pTip-RT2、配列番号 97 に表される塩基配列を有する pTip-RC1、配列番号 98 に表される塩基配列を有する pTip-RC2 からなる群から選択される [1 5] から [1 9] のいずれかの *Rhodococcus* 属細菌用誘導型発現ベクター、

[2 2] *Rhodococcus* 属細菌中で外来遺伝子を構成的に発現し得る発現ベクターであって、プラスミド pRE2895 由来の *Rhodococcus* 属細菌中でのプラスミドの自律複製に必要な DNA 配列および [1] から [3] のいずれかのプロモーター配列 DNA を含む、*Rhodococcus* 属細菌中で 4℃ から 35℃ の温度条件下で外来遺伝子を構

成的に発現し得る発現ベクター、

[2 3] プラスミド pRE2895 由来の *Rhodococcus* 属細菌中でのプラスミドの自律複製に必要な DNA 配列が *RepA* および *RepB* 遺伝子を含む 1.9kb の領域の DNA 配列である [2 2] の発現ベクター、

[2 4] 構成型プロモーター配列の下流に、さらにリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクローニング部位配列を含む [2 2] または [2 3] の発現ベクター、

[2 5] 配列番号 99 に表される塩基配列を有する pNit-QT1、配列番号 100 に表される塩基配列を有する pNit-QT2、配列番号 103 に表される塩基配列を有する pNit-QC1、配列番号 104 に表される塩基配列を有する pNit-QC2、からなる群から選択される [2 2] から [2 4] のいずれかの *Rhodococcus* 属細菌用構成型発現ベクター、

[2 6] 互いにプラスミド不和合性を起こさない少なくとも 2 種類の *Rhodococcus* 属細菌由来のプラスミドを含む *Rhodococcus* 属細菌であって、少なくとも 2 種類のプラスミドが、プラスミドの自律複製に必要な DNA 配列として、それぞれローリングサークル型複製様式をもつ DNA 配列と、pRE2895 由来のプラスミドの自律複製に必要な DNA 配列を有する、*Rhodococcus* 属細菌、

[2 7] 互いにプラスミド不和合性を起こさない少なくとも 2 種類の *Rhodococcus* 属細菌由来の発現プラスミドベクターであり外来タンパク質をコードする遺伝子を含む発現プラスミドベクターを含む *Rhodococcus* 属細菌であって、少なくとも 2 種類のプラスミドベクターが、プラスミドの自律複製に必要な DNA 配列として、それぞれ *Rhodococcus* 属細菌由来のローリングサークル型複製様式をもつ DNA 配列と、pRE2895 由来のプラスミドの自律複製に必要な DNA 配列を有し、外来タンパク質をコードする遺伝子を 4℃ から 35℃ の温度条件下で共発現し得る *Rhodococcus* 属細菌、

[2 8] 2 種類のプラスミドベクターが外来タンパク質を生産せしめるためのプロモーター配列、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクローニング部位配列、をそれぞれ全て含む、[2 7] の *Rhodococcus* 属細菌、

[29] 少なくとも2種類のプラスミドベクターの一方が、[4]、[5]、[15]～[19]、[20]および[21]のいずれかのベクターであり、もう一方が、[22]から[25]のいずれかのベクターもしくは[22]から[25]のベクターにおいて少なくともプロモーターを誘導型プロモーターである *TipA* 遺伝子プロモーターに置換した誘導発現し得るベクターである、[27]または[28]の *Rhodococcus* 属細菌、

[30] 少なくとも2種類のプラスミドベクターの一方が、[4]、[5]、[15]～[19]、[20]および[21]のいずれかのベクターであり、もう一方が、配列番号49に表される塩基配列を有する pTip-NH1、配列番号50に表される塩基配列を有する pTip-NH2、配列番号51に表される塩基配列を有する pTip-CH1、配列番号52に表される塩基配列を有する pTip-CH2、配列番号53に表される塩基配列を有する pTip-LNH1、配列番号54に表される塩基配列を有する pTip-LNH2、配列番号55に表される塩基配列を有する pTip-LCH1、配列番号56に表される塩基配列を有する pTip-LCH2、配列番号91に表される塩基配列を有する pTip-QT1、配列番号92に表される塩基配列を有する pTip-QT2、配列番号95に表される塩基配列を有する pTip-QC1、配列番号96に表される塩基配列を有する pTip-QC2、pTip-CH1.1、pTip-CH2.1、pTip-LCH1.1、pTip-LCH2.1、[22]から[25]のいずれかのベクターまたは[22]から[25]のいずれかのベクターにおいて少なくともプロモーターを誘導型プロモーターである *TipA* 遺伝子プロモーターに置換した誘導発現し得るベクターからなる群から選択されるベクターである、[27]から[29]のいずれかの *Rhodococcus* 属細菌、

[31] ローリングサークル型の複製様式に必要な DNA 配列が配列番号90に表される塩基配列の第3845位から第5849位の DNA であり、pRE2895由来のプラスミドの自律複製に必要な DNA 配列が *RepA* および *RepB* 遺伝子を含む1.9 kbの領域の DNA である[26]から[30]のいずれかの *Rhodococcus* 属細菌、

[32] 互いにプラスミド不和合性を起こさない少なくとも2種類の *Rhodococcus* 属細菌由来の発現プラスミドベクターであり外来タンパク質をコードする遺伝子を含む発現プラスミドベクターを含む *Rhodococcus* 属細菌であって、少なくとも2種類のプラスミドベクターが、プラスミドの自律複製に必要な DNA

配列として、それぞれ *Rhodococcus* 属細菌由来のローリングサークル型複製様式をもつ DNA 配列と、pRE2895 由来のプラスミドの自律複製に必要な DNA 配列を有する少なくとも 2 種類のベクターで *Rhodococcus* 属細菌を形質転換し、培養しそれぞれの発現ベクターが含む外来タンパク質をコードする遺伝子を 4℃ から 35℃ の温度条件下で共発現させて該外来タンパク質を産生させる方法、

[3 3] 2 種類のプラスミドベクターが外来タンパク質を生産せしめるためのプロモーター配列、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクロニング部位配列、をそれぞれ全て含む、[3 2]の方法、

[3 4] 少なくとも 2 種類のプラスミドベクターの一方が、[4]、[5]、[1 5]～[1 9]、[2 0]および[2 1]のいずれかのベクターであり、もう一方が、配列番号 4 9 に表される塩基配列を有する pTip-NH1、配列番号 5 0 に表される塩基配列を有する pTip-NH2、配列番号 5 1 に表される塩基配列を有する pTip-CH1、配列番号 5 2 に表される塩基配列を有する pTip-CH2、配列番号 5 3 に表される塩基配列を有する pTip-LNH1、配列番号 5 4 に表される塩基配列を有する pTip-LNH2、配列番号 5 5 に表される塩基配列を有する pTip-LCH1、配列番号 5 6 に表される塩基配列を有する pTip-LCH2、配列番号 9 1 に表される塩基配列を有する pTip-QT1、配列番号 9 2 に表される塩基配列を有する pTip-QT2、配列番号 9 5 に表される塩基配列を有する pTip-QC1、配列番号 9 6 に表される塩基配列を有する pTip-QC2、pTip-CH1.1、pTip-CH2.1、pTip-LCH1.1、pTip-LCH2.1、[2 2]から[2 5]のいずれかのベクターまたは[2 2]から[2 5]のいずれかのベクターにおいて少なくともプロモーターを誘導型プロモーターである *TipA* 遺伝子プロモーターに置換した誘導発現し得るベクターからなる群から選択されるベクターである、[3 2]から[3 4]のいずれかの方法、

[3 5] ローリングサークル型の複製様式に必須な DNA の塩基配列が配列番号 9 0 に表される塩基配列の第 3845 位から第 5849 位の塩基配列であり、pRE2895 由来のプラスミドの自律複製に必要な DNA 配列が *RepA* および *RepB* 遺伝子を含む 1.9 kb の領域の DNA である [3 2]から[3 4]のいずれかの方法。

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明は、*Rhodococcus* 属細菌から単離された、ローリングサークル型の複製様式で複製し得る環状プラスミドおよび該環状プラスミドから構築された発現ベクターを包含する。ローリングサークル型の複製様式とは、二本鎖環状 DNA の複製の様式であり、特異的エンドヌクレアーゼの作用により特定の DNA 鎖上の特定の位置にニックが入り、そのニックの 3'-OH 端から DNA 合成が開始され、ニックの入っていない環状 DNA 鎖を鋳型として一回りする形で進む複製様式をいう。このような複製様式をとるためには、ローリングサークル型の複製様式に必要な DNA 領域が必要であり、例えば *Rep* 遺伝子が挙げられる。さらに、2 本鎖複製起点領域 DS0 (double-stranded origin) および 1 本鎖複製起点領域 SS0 (single-stranded origin) が必要である。従って、本発明のローリングサークル型の複製様式で複製し得る環状プラスミドおよび該環状プラスミドから構築された発現ベクターは、ローリングサークル型の複製様式に必要な DNA 領域、すなわち *Rep* 遺伝子、2 本鎖複製起点領域 DS0 (double-stranded origin) および 1 本鎖複製起点領域 SS0 (single-stranded origin) を含むプラスミドおよび発現ベクターである。このようなプラスミドは、*Rhodococcus* 属細菌から単離することができ例えば、*Rhodococcus erythropolis* DSM8424 株から単離した pRE8424 が挙げられ、その全長配列を配列番号 90 に示す。配列番号 90 中、第 3845 位から 5849 位までがローリングサークル型の複製様式に必要な DNA 領域、すなわち *Rep* 遺伝子の DNA、2 本鎖複製起点領域 DS0 (double-stranded origin) および 1 本鎖複製起点領域 SS0 (single-stranded origin) を表す。

本発明は、配列番号 90 で表されるプラスミドを構成する DNA に相補的な DNA にストリンジেন্টな条件下でハイブリダイズする DNA から構成されるプラスミドであって、ローリングサークル型の複製様式で複製し得るプラスミドも包含する。ここで、ストリンジेंटな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が 500~1000 mM、好ましくは 700 mM であり、温度が 50~70 °C、好ましくは 65 °C での条件をいう。このようなプラスミドはその全長塩基配列が配列番号 90 で表される塩基配列と BLAST 等（例えば、デフォルトすなわち初期設定のパラメータを用いて）を用いて計算したときに、90%以上、好ましくは 95%以上、さらに好ましくは 98%以上の相同性を有する塩基配列からなるプラスミドである。

該プラスミドから得られたローリングサークル型の複製様式に必要な DNA 領域である *Rep* 遺伝子、2 本鎖複製起点領域 DS0 (double-stranded origin) および 1 本鎖複製起点領域 SS0 (single-stranded origin) を含み、さらにプロモーター配列、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクロニング部位配列を含む発現ベクターも本発明に包含される。さらに、外来遺伝子および転写終結配列を含んでいてもよく、プロモーター活性を有する DNA 配列、外来遺伝子および転写終結配列は発現カセット (Expression cassette) を構成する。ここで、プロモーター配列は薬剤等の誘導因子によりその下流に導入した外来遺伝子を誘導的に発現し得るプロモーターも、誘導因子に依存することなく構成的に外来遺伝子を発現し得るプロモーターも含まれる。前者の誘導的に外来遺伝子を発現し得るプロモーターとして、例えば *TipA* 遺伝子プロモーターが挙げられ、チオストレプトンの存在下でその下流の外来遺伝子を誘導的に発現する。さらに、本発明のベクターは、*TipA* タンパク質をコードする *TipA* 遺伝子、*TipA* 遺伝子の発現を誘導する *ThcA* 遺伝子プロモーター等の適当なプロモーターを含んでいてもよい。*TipA* 遺伝子および *TipA* 遺伝子発現用プロモーターは誘導カセット (Inducer cassette) を構成する。宿主細胞が *Rhodococcus* 属に属する細菌である場合、該細菌はチオストレプトンに対して感受性であるため、チオストレプトンに対しての耐性を付与するチオストレプトン耐性遺伝子等を組込む。さらに、*TipA* 遺伝子プロモーターは *TipA-LG10* プロモーター等のその配列を改変させたものでもよい。*TipA* 遺伝子プロモーターの配列は図 1 2 に示される。

また、後者の構成的に外来遺伝子を発現し得るプロモーターとして、前記 *TipA* 遺伝子プロモーターを改変したプロモーターが挙げられる。このような改変 *TipA* 遺伝子プロモーターとしては、*TipA* 遺伝子プロモーターの -10 領域配列に変異を導入したプロモーターが挙げられ、具体的には、-10 領域配列の変異が、CAGCGT 配列の TATAAT 配列への変異であるプロモーターが挙げられる。さらに、このようなプロモーターの一例として、図 1 9 に示す配列に含まれるプロモーターが例示できる。

また、図 1 2 に示すプロモーターの配列を有する DNA または図 1 9 に示す配列に含まれるプロモーターの配列を有する DNA に相補的な DNA にストリンジェント

な条件下でハイブリダイズする DNA からなり、それぞれのプロモーター活性と同等の活性を有するポリヌクレオチドもプロモーターとして用いることができる。ここで、ストリンジェントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が 500～1000 mM、好ましくは 700 mM であり、温度が 50～70 °C、好ましくは 65 °C での条件をいう。このようポリヌクレオチドはその全長塩基配列が上記プロモーターの塩基配列と BLAST 等（例えば、デフォルトすなわち初期設定のパラメータを用いて）を用いて計算したときに、90%以上、好ましくは 95%以上、さらに好ましくは 98%以上の相同性を有する塩基配列からなるプロモーターである。

本発明は、さらに前記ベクターにさらに大腸菌用プラスミドの自律複製に必要な DNA 領域ならびに大腸菌の形質転換体選択マーカーを含むベクターも含まれ、このようなベクターは *Rhodococcus* 属細菌と大腸菌とのシャトルベクターとして利用できる。この際、大腸菌では構成型発現ベクターとして利用することができる。大腸菌用プラスミドの自律複製に必要な DNA 領域としては *ColE1*、*ColE2* 配列等、大腸菌の形質転換体選択マーカーとしてはアンピシリン耐性遺伝子などの公知のものを使用することができ、これらは公知の大腸菌用クローニングベクターから得ることができる。

TipA 遺伝子プロモーター、ローリングサークル型の複製様式に必要な DNA 領域、2 本鎖複製起点領域 DS0 (double-stranded origin) および 1 本鎖複製起点領域 SS0 (single-stranded origin) を含み、さらに前記プロモーター配列の下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクローニング部位配列および大腸菌用プラスミドの自律複製に必要な DNA 領域を含む *Rhodococcus* 用発現ベクターとして、配列番号 93 に表される塩基配列を有する pTip-RT1、配列番号 94 に表される塩基配列を有する pTip-RT2、配列番号 97 に表される塩基配列を有する pTip-RC1、配列番号 98 に表される塩基配列を有する pTip-RC2 が例示できる。また、*TipA* 遺伝子プロモーターの代わりに *TipA* 遺伝子プロモーターの -10 領域配列の変異が CAGCGT 配列の TATAAT 配列への変異であるプロモーターを有するベクターとしては、配列番号 101 に表される塩基配列を有する pNit-RT1、配列番号 102 に表される塩基配列を有する pNit-RT2、配列番号 105 に表される塩基配列を有する pNit-RC1、配列番号 106 に表される塩

塩基配列を有する pNit-RC2 が例示できる。これらの、配列番号で表される塩基配列からなる構成する DNA に相補的な DNA にストリンジントな条件下でハイブリダイズする DNA から構成されるベクターであって、外来遺伝子を宿主微生物中で発現し得るベクターも本発明に包含される。ここで、ストリンジントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が 500~1000 mM、好ましくは 700 mM であり、温度が 50~70 °C、好ましくは 65 °C での条件をいう。このようなベクターはその全長塩基配列が上記ベクターの配列番号で表される塩基配列と BLAST 等（例えば、デフォルトすなわち初期設定のパラメータを用いて）を用いて計算したときに、90%以上、好ましくは 95%以上、さらに好ましくは 98%以上の相同性を有する塩基配列からなるベクターである。配列番号で示される以下のベクターについても同様である。

本発明は、さらに上記のローリングサークル型の複製様式に必要な DNA 領域（*Rep* 遺伝子、DSO および SS0）ではなく、他の自律複製に必要な DNA 領域を含む発現ベクターをも包含する。このように複製に必要な DNA 領域が異なる発現ベクター同士は、一つの宿主に同時に導入し、安定に保持することができる。他の自律複製に必要な DNA 領域として例えば、*RepA* 遺伝子および *RepB* 遺伝子が挙げられる。*RepA* 遺伝子および *RepB* 遺伝子を含む DNA 領域は、*Rhodococcus* 属細菌、例えば *R. erythropolis* JCM2895 株から分離した内在性プラスミド pRE2895 から単離することができる。*RepA* 遺伝子および *RepB* 遺伝子を含む 1.9 kb の領域は、配列番号 49 の第 6233 位から第 8166 位であり、このうち *RepA* ORF は 6765 位から 7652 位、*RepB* ORF は 7652 から 7936 位である。また、*RepA* 遺伝子および *RepB* 遺伝子を含む DNA 領域は後述の参考例に記載のベクター pHN129 の制限地図（図 1）を参照すれば得ることができる。また、配列番号 49 の第 6233 位から第 8166 位で表される塩基配列からなる DNA に相補的な DNA にストリンジントな条件下でハイブリダイズする DNA であって、ベクターに自律複製能を付与する DNA も本発明の *RepA* 遺伝子および *RepB* 遺伝子を含む 1.9 kb の領域として用いることができる。ここで、ストリンジントな条件とは、例えば、ナトリウム濃度が 500~1000 mM、好ましくは 700 mM であり、温度が 50~70 °C、好ましくは 65 °C での条件をいう。このような DNA はその全長塩基配列が配列番号 49 の第 6233 位から第 8166

位で表される塩基配列と BLAST 等（例えば、デフォルトすなわち初期設定のパラメータを用いて）を用いて計算したときに、90%以上、好ましくは 95%以上、さらに好ましくは 98%以上の相同性を有する塩基配列からなる DNA である。この自律複製に必要な DNA 領域および *TipA* 遺伝子プロモーターの -10 領域配列が CAGCGT 配列の TATAAT 配列へ変異したプロモーター、さらにその下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクローニング部位配列を含む発現ベクターを含む発現ベクターはマルチクローニング部位に組込まれた外来遺伝子を誘導因子に依存することなく構成的に発現することができる。このような発現ベクターとして、配列番号 99 に表される塩基配列を有する pNit-QT1、配列番号 100 に表される塩基配列を有する pNit-QT2、配列番号 103 に表される塩基配列を有する pNit-QC1、配列番号 104 に表される塩基配列を有する pNit-QC2、からなる群から選択される *Rhodococcus* 属細菌用構成型発現ベクターが挙げられ、さらにチオストレプトンの存在下で、導入された外来遺伝子を誘導的に発現し得る配列番号 49 に表される塩基配列を有する pTip-NH1、配列番号 50 に表される塩基配列を有する pTip-NH2、配列番号 51 に表される塩基配列を有する pTip-CH1、配列番号 52 に表される塩基配列を有する pTip-CH2、配列番号 53 に表される塩基配列を有する pTip-LNH1、配列番号 54 に表される塩基配列を有する pTip-LNH2、配列番号 55 に表される塩基配列を有する pTip-LCH1、配列番号 56 に表される塩基配列を有する pTip-LCH2、pTip-CH1.1、pTip-CH2.1、pTip-LCH1.1 および pTip-LCH2.1 の誘導性プロモーターを前記の *TipA* 遺伝子プロモーターの -10 領域配列の変異が CAGCGT 配列の TATAAT 配列への変異であるプロモーターに置換したベクターが挙げられる。なお、誘導型発現ベクターは *TipA* 遺伝子もしくはその変異体および *TipA* 遺伝子発現用プロモーターを含む誘導力セットならびにチオストレプトン耐性遺伝子も含んでいる必要がある。

本発明の上記発現ベクターに外来遺伝子を組み込み、宿主微生物に導入し該宿主微生物を培養することにより、該外来遺伝子を発現させることができる。発現ベクターへの外来遺伝子の組込みは公知の遺伝子工学的手法により行うことができる、宿主微生物への発現ベクターの導入も公知の手法で行うことができる。さらに、宿主微生物の培養も、それぞれの微生物に適合した培地を用いて適当な条件

下で培養を行えばよい。ベクターを組み込む宿主生物としては、*Rhodococcus* 属細菌および大腸菌が挙げられる。ここで、外来遺伝子とは、本発明のベクターを用いて発現させようとする標的タンパク質をコードする遺伝子であり、宿主細胞以外の生物由来のタンパク質をコードする遺伝子をいう。本発明のベクターを用いて発現産生させるタンパク質は限定されず、いかなるタンパク質も対象となり得る。本発明の発現ベクターを導入する宿主生物が低温で増殖可能な微生物、例えば *R. erythropolis*、*R. fascians* および *R. opacus* 等の *Rhodococcus* 属細菌である場合、通常の微生物の増殖に適した温度条件、即ち約 15 °C を超える中高温で発現させることが困難であるかまたは不可能なタンパク質を発現産生させることができる。このようなタンパク質として、宿主細胞の至適生育温度範囲内の温度で発現できないが同一のまたは異なる種類の宿主細胞を用いた場合にその微生物の好適生育温度範囲内の温度よりも低温で発現できるタンパク質、宿主微生物の好適生育温度範囲内の温度で発現させた場合に該宿主細胞にとって致死性となるが同一のまたは異なる種類の宿主細胞の好適生育温度範囲内の温度よりも低温ではそれらの宿主細胞に致死性でないタンパク質、宿主細胞の好適生育温度範囲内の温度で発現させた場合に該宿主細胞の増殖を阻害するが同一のまたは異なる種類の宿主細胞の好適生育温度範囲内の温度よりも低温ではそれらの宿主細胞の増殖を阻害しないタンパク質、宿主細胞の好適生育温度範囲内の温度で発現させた場合に封入体と呼ばれる不活性なタンパク質の凝集を作るが同一のまたは異なる種類の宿主細胞の好適生育温度範囲内の温度よりも低温でそれらの宿主細胞で発現させた場合に活性のある可溶性タンパク質となるタンパク質、好適生育温度範囲が 20 °C 以下である好冷菌、低温環境下に生存する変温動物、低温環境下に生存する植物由来のタンパク質が挙げられる。

発現ベクターが含んでいるプロモーターが誘導型のプロモーターの場合、誘導物質の宿主微生物の培養系に添加することにより、外来遺伝子の発現産生を誘導することができる。本発明の発現ベクターが含む誘導型プロモーターとして、*TipA* 遺伝子プロモーターが挙げられ、該遺伝子プロモーターを含んでいる場合、チオストレプトンの添加により発現産生が誘導される。この際チオストレプトンは、終濃度 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 以上、好ましくは 1 $\mu\text{g/ml}$ 以上となるように添加すればよい。

ただし、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を越えると生育が悪くなる。また、本発明の発現ベクターが構成型のプロモーターを含んでいる場合は、誘導物質を添加することなく外来遺伝子が発現産生される。

本発明の発現ベクターのうち、自律複製に必要な DNA が互いに異なる発現ベクターは同一の微生物細胞に同時に共形質転換することにより、該細胞内で安定に維持され、それぞれのベクターが含んでいる外来遺伝子を同時に発現産生させることができる。この場合、それぞれのベクターが含んでいる外来遺伝子は同じタンパク質をコードするものでも、異なるタンパク質をコードするものでもよい。例えば、2つのサブユニットからなるタンパク質のそれぞれのサブユニットを自律複製に必要な DNA が互いに異なる別々の発現ベクターに組込んで、同一の微生物細胞に導入することにより、一つの細胞内で各サブユニットが同時に発現され、サブユニット同士が会合して完全なタンパク質が産生される。この際、発現ベクターは構造的に外来遺伝子を発現し得るもの、誘導的に発現し得るものの何れの組合わせを用いてもよいが、自律複製に必要な DNA が異なる複数の発現ベクターのすべてを誘導的に外来遺伝子を発現し得るものにし、発現誘導物質で発現誘導することにより、2種類以上の外来タンパク質を同時に発現産生させることができる。

さらに、本発明の発現ベクター中の大腸菌用複製起点について異なるものを選択することにより、大腸菌においても2種類のタンパク質を同時発現させることができる。

本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願 2003-116280 号の明細書および/または図面に記載される内容を包含する。

図面の簡単な説明

図1は、誘導型発現ベクターのバックボーンになるプラスミド pHN136 の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対（キロベースペア：kb）を示す。

図2は、チオストレプトン耐性遺伝子を持つプラスミド pHN143 の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対（キロベ

スペアー：kb)を示す。CIAPはCalf Intestine Alkaline Phosphataseを、Blu.は平滑末端(Blunt end)を意味する。

図3は、Inducer cassetteを持つプラスミドpHN62の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対(キロベースペア：kb)を示す。Blu.は平滑末端(Blunt end)を意味する。

図4は、Expression cassetteを持つプラスミドpHN153の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対(キロベースペア：kb)を示す。CIAPは(Calf Intestine Alkaline PhosphataseをBlu.は平滑末端(Blunt end)を意味する。

図5は、テトラサイクリン耐性遺伝子を持つプラスミドpHN169の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対(キロベースペア：kb)を示す。CIAPはCalf Intestine Alkaline Phosphataseを、Blu.は平滑末端(Blunt end)を意味する。

図6は、PIPをレポーター遺伝子として持つ誘導型発現ベクタープラスミドpHN170、pHN171の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置を示す。数字は塩基対(キロベースペア：kb)を示す。CIAPはCalf Intestine Alkaline Phosphataseを意味する。

図7は、マルチクローニング部位を持つ誘導型発現ベクタープラスミドpTip-NH1、pTip-CH1、pTip-LNH1、pTip-LCH1の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対(キロベースペア：kb)を示す。

図8は、マルチクローニング部位を持つ誘導型発現ベクタープラスミドpTip-NH2、pTip-CH2、pTip-LNH2、pTip-LCH2の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置をしめす。数字は塩基対(キロベースペア：kb)を示す。

図9 aは、pTip-NH1、pTip-CH1、pTip-LNH1、pTip-LNH1、pTip-NH2、pTip-CH2、pTip-LNH2、pTip-LCH2のマップを示す図である。各領域の機能と、プラスミドのマップを示す。

図9 bは、pTip-NH1、pTip-LNH1の *TipA* 遺伝子プロモーター配列、または

TipA-LG10 プロモーター配列から、マルチクローニング部位、*ThcA* 遺伝子転写終結配列までの DNA 配列を示す。

図 9 c は、pTip-CH1、pTip-LCH1 の *TipA* 遺伝子プロモーター配列、または *TipA-LG10* プロモーター配列から、マルチクローニング部位、*ThcA* 遺伝子転写終結配列までの DNA 配列を示す。

図 9 d は、pTip-NH2、pTip-LNH2 の *TipA* 遺伝子プロモーター配列、または *TipA-LG10* プロモーター配列から、マルチクローニング部位、*ThcA* 遺伝子転写終結配列までの DNA 配列を示す。

図 9 e は、pTip-CH2、pTip-LCH2 の *TipA* 遺伝子プロモーター配列、または *TipA-LG10* プロモーター配列から、マルチクローニング部位、*ThcA* 遺伝子転写終結配列までの DNA 配列を示す。

図 10 は、pTip-CH1.1、pTip-LCH1.1、pTip-CH2.1 および pTip-LCH2.1 のマップを示す図である。

図 11 は、PIP 活性測定のためのコントロールプラスミド pHN172、pHN173 の構築図である。図中に制限酵素認識部位と構造遺伝子の位置を示す。数字は塩基対（キロベースペア：kb）を示す。また、CIAP は Calf Intestine Alkaline Phosphatase を意味する。pHN170 は、「Expression cassette」と「Inducer cassette」両方をもつものに対して、pHN173 は「Expression cassette」のみをもち、pHN172 は両 cassette を持たない。

図 12 は、*TipA* 遺伝子プロモーター配列を示す図である。

図 13 は、*TipA* 遺伝子プロモーターの *TipA-LG10* プロモーターへの改良を示す図である。

図 14 は、pRE8424 のマップを示す図である。図中には主な制限酵素認識部位が示されていて、オープンリーディングフレーム（ORF）が矢印で示されている。DSO と SS0 の位置が四角で示されている。

図 15 は、pRE8424、pAP1、pBL1、pJV1、pIJ101、pSN22 の Rep タンパク質の 5 カ所の保存された領域（Motif IV、Motif I、Motif II、Motif III、C-terminal motif）のアミノ酸配列を示す図である。Rep タンパク質の機能に重要とされるチロシン残基は四角で囲ってある。

図 1 6 は、pRE8424、pAP1、pBL1、pJV1、pIJ101、pSN22 の DSO と考えられる配列のうち、特に保存された DNA 配列を示す図である。

図 1 7 は、pRE8424 の SS0、即ち配列表中の配列番号 9 0 のうちヌクレオチド番号 5268 から 5538 の配列と、その取りうる二次構造を示す図である。

図 1 8 - 1 は、pTip ベクターのマップを示す図である。

図 1 8 - 2 は、pNit ベクターのマップを示す図である。

図 1 9 は、*TipA-LG10p* - MCS - *ALDHt*、*Nit-LG10* - MCS - *ALDHt* の DNA 配列を示す図である。*TipA* 遺伝子プロモーターの野生型-10 領域配列は CAGCGT で、*Nit* プロモーターの-10 領域配列は TATAAT で、おのおの四角で囲まれている。

図 2 0 は、*R. erythropolis* JCM3201 株を pHN380、pHN410、pHN381、pHN387、pHN389 で、形質転換し、PIP のペプチダーゼ活性を測定した結果を示す図である。

図 2 1 は、PIP、GFP を不和合性を起こさない 2 つのベクターに組み込み、単一の *R. erythropolis* JCM3201 細胞で、発現、精製し、SDS ポリアクリルアミド電気泳動結果後、ゲルをクマシーブリリアントグリーン G-250 で染色した結果を示す写真である。

発明を実施するための最良の形態

以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明はこれら実施例にその技術的範囲が限定されるものではない。

〔参考例 1〕

(1) *Rhodococcus erythropolis* 由来の、*Rhodococcus* 属細菌内で自律複製可能なプラスミドの分離とその一部 DNA 配列の決定

Rhodococcus erythropolis と大腸菌の複合ベクターを作成するために、まず *Rhodococcus* 属細菌内に存在する小型の内在性プラスミドを検索した。すると、*Rhodococcus erythropolis* JCM2895 株にその存在が確認された。このプラスミドに pRE2895 と名前を付けた。以下にプラスミドの分離と、その DNA 配列決定について具体的に述べる。

Rhodococcus erythropolis JCM2895 株を 5 ml の LB 培地 (1% Difco Bacto Tryptone、0.5% Difco Yeast Extract、1.0% 塩化ナトリウム) にて、30 °C で 30

時間培養した菌体から QIAprep Spin Miniprep Kit(QIAGEN 社製)を用いて pRE2895 を精製した。この際、Buffer P1 250 μ l に懸濁後、Buffer P2 250 μ l を加える前に、5 μ l のリゾチーム (100 mg/ml) を加え 37 $^{\circ}$ C で 30 分インキュベートした点を除いては、使用説明書通りに作業した。

上記 DNA サンプルを制限酵素 *Eco*RI で処理し、1.0% アガロースゲル電気泳動 (100 V、30 分) に供したところ、約 5.4 kb の DNA 断片 1 本の存在が確認された。

この約 5.4 kb の DNA 断片をゲルから切り出し、QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN 社製) を用いて、使用説明書通りに精製した。得られた *Eco*RI 断片を常法 (Sambrook et al., Molecular Cloning: a laboratory manual, 2nd edition [1989], Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.) に従って、プラスミド pBluescript II SK (+) (STRATAGENE 社製) の *Eco*RI 部位にサブクローンし、このプラスミドに pHN79 と名前を付けた。

pHN79 を Reverse、M13-20 両プライマー (共に STRATAGENE 社製) を用い、DNA シークエンサー ABI PRISM(R) 3100 Genetic Analyzer (ABI 社製) を用いて、使用説明書に準じて、pHN79 の塩基配列を約 400 塩基ずつそれぞれ決定した。相同性検索の結果、pHN79 にサブクローンされた *Rhodococcus erythropolis* JCM2895 株由来の DNA 領域はその 99.8% の配列が GenBank に受入番号 AF312210 として登録されている 5403 塩基対の環状 DNA、pN30 と一致した。

分離した pRE2895 は全塩基配列を決定しなかったが、pN30 との相同性は極めて高く、また制限酵素切断地図も pN30 の配列から予想されるものと一致したことから、これらの相同性はプラスミド全体にわたっていると予想された。また、pN30 は *Mycobacterium fortuitum* 002 株から分離された内在性プラスミド pAL5000 (Rauzer et al., Gene 71 315-321 [1988], Stolt and Stoker, Microbiology 142 2795-2802 [1996]), *Rhodococcus erythropolis* NI86/21 株から分離された pFAJ2600 (De Mot et al., Microbiology 143 3137-3147 [1997]) と相同性が高く、類似の機構で自律複製していると考えられた。pAL5000 は推定 *RepA* 遺伝子、推定 *RepB* 遺伝子、推定複製開始点を含む領域のみで各細菌内で自律複製するために十分であるため、本発明者らが分離した pRE2895 も同様の領域のみを発現ベクター中に組み込めば、*Rhodococcus* 属細菌内で自律複製するために十分と考えら

れた。

(2) ベクタープラスミド pHN136 の構築

前記 (1) で分離した pRE2895 の一部と大腸菌内で自律複製可能なプラスミドの一部を用いて両菌の複合ベクターを作成するため以下の作業を行った (図 1)。

プラスミド pBluescript II SK (-) (STRATAGENE 社製) をテンプレートとして、配列表中の配列番号 1、2 に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチドプライマー (以下プライマーと略記) を用いて、ポリメラーゼチェーンリアクション法 (以下、PCR と略記: Saiki et al., Science, 239 487-491 [1988]) による DNA の増幅を行った。なお、用いた PCR 用の酵素は Pfu turbo (STRATAGENE 社製) である。その結果、アンピシリン耐性遺伝子 (図中においては Amp^r と表記) と大腸菌内で自律複製させるために必要な *ColE1* 配列領域を含む 2.0kb の増幅された DNA を得た。この DNA 断片を制限酵素 *SacI* と *BsrGI* で二重消化し、1.0% アガロースゲル電気泳動 (100 V、30 分) に供し、該 DNA 断片を切り出し、QIAquick Gel Extraction Kit を用いて、使用説明書に準じて精製した。

一方、pN30 (前記 (1)) の配列をもとに *Rhodococcus* 属細菌内で自律複製するために必要と思われる領域を増幅するプライマーを設計した。なお、同プライマーの配列は配列表中の配列番号 3、4 で示される。プラスミド pHN79 をテンプレートとして、両プライマーを用いて PCR による増幅を行ったところ 1.9 kb の増幅された DNA を得た。この DNA 断片を制限酵素 *BsrGI* と *SacI* で二重消化し、1.0% アガロースゲル電気泳動 (100 V、30 分) に供し、該 DNA 断片を切り出し、上述の方法と同様に精製した。

上記 2 つの精製された DNA 断片を DNA Ligation Kit Ver. 2 (宝酒造社製) を用いて、使用説明書通りにライゲーションし、得られたプラスミドに pHN129 と名前を付けた。

次に pHN129 に存在する制限酵素認識部位 *BamHI*、*SalI* を除去するため以下の作業をおこなった。まず、pHN129 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 5、6 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。この PCR 断片を *BglII* と *PstI* で二重消化して得られた 0.5 kb の DNA 断片を pHN129 の *BamHI*、*PstI* 部位にサブクローンした。結果、*BglII* と *BamHI* で連結された部分においては推定 *RepA*

遺伝子のオープンリーディングフレーム（以下 ORF と略記）内であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、*Bam*HI 認識部位が除去された。また *Sa*II 認識部位は *Bam*HI 認識部位のごく近傍に存在したが、配列番号 5 に記載のプライマー中において、*Sa*II 認識部位が除かれ、かつ、コードされるアミノ酸が置換されないよう設計されていることから、*Bam*HI 認識部位と同時に *Sa*II 認識部位も除去されている。このプラスミドに pHN135 と名前を付けた。

次に pHN135 に存在する制限酵素認識部位 *Bg*III を除去するため以下の作業をおこなった。まず、プラスミド pHN135 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 5、6 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。この PCR 断片を *Pst*I と *Bam*HI で二重消化して得られた 0.5 kb の DNA 断片を pHN135 の *Pst*I、*Bg*III 部位にサブクローンした。結果、*Bam*HI と *Bg*III で連結された部分においては推定 *RepB* 遺伝子の ORF 部分であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、*Bg*III 認識部位が除去された。この結果得られたプラスミドに pHN136 と名前をつけた。

（３）ベクタープラスミド pHN143 の構築

タンパク質の発現誘導には抗生物質チオストレプトンを用いるが、*Rhodococcus erythropolis* は同物質に対して感受性であるために、耐性を付与させなければならない。そこで *Streptomyces azureus* が持つチオストレプトン耐性遺伝子、*tsr* 遺伝子 (Bibb et al., Mol. Gen. Genet. 199 26-36 [1985] : 図中においては、Thio^I と表記する) を複合ベクター中に組み込むこととした。なお、この遺伝子が *Rhodococcus erythropolis* 内で機能し、チオストレプトン耐性を付与することはすでに報告されている (Shao and Behki, Lett. Appl. Microbiol. 21 261-266 [1995])。以下に、同遺伝子の分離について具体的に述べる (図 2)。

まず、PCR のテンプレートに使用する *Streptomyces azureus* JCM4217 株のゲノム DNA を以下のように調製した。5ml の SB 培地 (1% Difco Bacto Tryptone、0.5% Difco Yeast Extract、0.5% 塩化ナトリウム、0.1% Glucose、5 mM 塩化マグネシウム、0.5% グリシン) にて 30 °C で培養した同菌株を 500 µl の SET バッファー (75 mM 塩化ナトリウム、25 mM EDTA [pH8.0]、20 mM Tris-HCl [pH7.5]) に懸濁した。そこに、5 µl のリゾチーム溶液 (100 mg/ml) を加え、37 °C で 30

分インキュベートした。そして、14 μ l のプロテアーゼ K 溶液 (20 mg/ml) と 60 μ l の硫酸ドデシルナトリウム溶液 (10%) を加え、よく混合した後 55 $^{\circ}$ C で 2 時間インキュベートした。その後、200 μ l の塩化ナトリウム溶液 (5 M) と 500 μ l のクロロホルムを加え、20 分間室温で回転撹拌した。遠心分離し、700 μ l の上清をとった。これをイソプロパノール沈殿後、乾燥させ、50 μ l の TE 溶液 (10 mM Tris-HCl [pH8.0]、1 mM EDTA [pH8.0]) に溶解した。

上記のように精製した *Streptomyces Azureus* JCM4217 株のゲノム DNA をテンプレートとして、配列表中の配列番号 7、8 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。その結果、チオストレプトン耐性遺伝子を含む 1.1 kb の増幅された DNA を得た。なおこの DNA 断片はプラチナ Pfx DNA ポリメラーゼ (Gibco BRL 社製) を用いたため、その末端は平滑末端である。この DNA 断片を精製し、常法 (Sambrook et al., Molecular Cloning: a laboratory manual, 2nd edition [1989], Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.) に従い 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した後、プラスミド pGEM-3Zf (+) (Promega 社製) の *Hinc*II 部位にサブクローンした (サブクローンされた向きは DNA の 5' 方向から *Hind*III 認識部位-*tsr* 遺伝子 ORF-*Eco*RI 認識部位である)。このプラスミドに pHN137 と名前を付けた。

次に pHN137 に存在する制限酵素認識部位 *Sal*I を除去するため以下の作業をおこなった。まず、プラスミド pHN137 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 9、10 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。なおこの PCR にはプラチナ Pfx DNA ポリメラーゼを用いた。この PCR 断片の片方の末端を *Hind*III で消化して得られた 0.6 kb の DNA 断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。一方、プラスミド pHN137 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 11、12 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。なおこの PCR にはプラチナ Pfx DNA ポリメラーゼを用いた。この PCR 断片の片方の末端を *Eco*RI で消化して得られた 0.5 kb の DNA 断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。これら 2 つの PCR 断片を同時にプラスミド pGEM-3Zf (+) の *Hind*III、*Eco*RI 部位にサブクローンした結果、平滑末端同士

で連結された部分においては *tsr* 遺伝子の ORF 部分であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、*Sa*II 認識部位が除去された。このプラスミドに pHN143 と名前を付けた。

(4) ベクタープラスミド pHN62 の構築

チオストレプトンによって誘導型発現をさせるためには *Rhodococcus* 属細菌内に TipA タンパク質を存在させなければならない。そのために、*Rhodococcus erythropolis* から構成的なプロモーターを分離し、その下流に TipA タンパク質をコードする構造遺伝子を連結した (図 3)。構成的に機能するプロモーターとしては *Rhodococcus erythropolis* のアルデヒドデヒドロゲナーゼ様タンパク質をコードする *ThcA* 遺伝子 (Nagy et al., J. Bacteriol. 177 676-687 [1995]) のプロモーター配列を用いた。

テンプレートに使用する *Streptomyces coelicolor* A3 (2) 株のゲノム DNA は *Streptomyces azureus* からゲノム DNA を調製したときと同様に作業し、精製した。また、*Rhodococcus erythropolis* JCM3201 株のゲノム DNA は 5 ml の LB 培地で培養した点を除いては *Streptomyces azureus* からゲノム DNA を調製したときと同様に作業し、精製した。

上述のように精製した *Streptomyces coelicolor* A3 (2) 株のゲノム DNA をテンプレートとして、配列表中の配列番号 13、14 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。なおこの PCR にはプラチナ Pfx DNA ポリメラーゼを用いた。その結果、*TipA* 遺伝子の ORF 並びにその下流の転写終結配列を含む DNA (図中においては TipA と表記) を得た。

この PCR 断片の片方の末端を *Bgl*II で消化して得られた 0.9 kb の DNA 断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。一方、上述のように精製した *Rhodococcus erythropolis* JCM3201 株のゲノム DNA をテンプレートとして、配列表中の配列番号 15、16 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。その結果、アルデヒドデヒドロゲナーゼ様タンパク質をコードする *ThcA* 遺伝子 (Nagy et al., J. Bacteriol. 177 676-687 [1995]) のプロモーター配列 (図中においては ALDHp と表記) を含む DNA を得た。なおこの PCR にはプラチナ Pfx DNA ポリメラーゼを

用いた。この PCR 断片の片方の末端を *Xba*I で消化して得られた 0.2 kb の DNA 断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。これら 2 つの PCR 断片を同時にプラスミド pGEM-3Zf (+) の *Xba*I、*Bam*HI 部位にサブクローンした結果、*ThcA* 遺伝子のプロモーター配列のすぐ下流に *TipA* 遺伝子の ORF 並びに転写終結配列を含むプラスミドが作成され、pHN33 と名前を付けた。

次に pHN33 に存在する制限酵素 *Nco*I 認識部位 2 カ所（以下、*Nco*I (1)、*Nco*I (2) と表記する）を除去するため以下の作業をおこなった。

まず、プラスミド pHN33 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 9、17 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。なおこの PCR にはプラチナ Pfx DNA ポリメラーゼを用いた。この PCR 断片の片方の末端を *Xba*I で消化して得られた 0.5 kb の DNA 断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。一方、プラスミド pHN33 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 18、12 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。なおこの PCR にはプラチナ Pfx DNA ポリメラーゼを用いた。この PCR 断片の片方の末端を *Kpn*I で消化して得られた 0.6 kb の DNA 断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。これら 2 つの PCR 断片を同時にプラスミド pGEM-3Zf (+) の *Xba*I、*Kpn*I 部位にサブクローンした結果、平滑末端同士で連結された部分においては *TipA* 遺伝子の ORF 部分であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、*Nco*I (1) 認識部位が除去された。このプラスミドに pHN50 と名前を付けた。

次に pHN33 に存在する制限酵素認識部位 *Nco*I (2) を除去するため以下の作業をおこなった。まず、プラスミド pHN33 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 9、19 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。なおこの PCR にはプラチナ Pfx DNA ポリメラーゼを用いた。この PCR 断片の片方の末端を *Xba*I で消化して得られた 0.8 kb の DNA 断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。一方、プラスミド pHN33 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 20、12 に記載のプライマ

ーを用いて、PCR による増幅を行った。なおこの PCR にはプラチナ Pfx DNA ポリメラーゼを用いた。この PCR 断片の片方の末端を *KpnI* で消化して得られた 0.3 kb の DNA 断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。これら 2 つの PCR 断片を同時にプラスミド pGEM-3Zf (+) の *XbaI*, *KpnI* 部位にサブクローンした結果、平滑末端同士で連結された部分においては *TipA* 遺伝子の ORF 部分であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、*NcoI* (2) 認識部位が除去された。このプラスミドに pHN51 と名前を付けた。

最後に以下の作業を行った。pHN50 を *XbaI* と *SacI* で二重消化して得られた 0.7kb の DNA 断片と pHN51 を *SacI* と *KpnI* で二重消化した 0.4kb の断片を同時にプラスミド pGEM-3Zf (+) の *XbaI*, *KpnI* 部位にサブクローンした。結果、*NcoI* (1) と *NcoI* (2) 両方の制限酵素部位を欠いた *TipA* 遺伝子を持つプラスミドを取得し、これに pHN62 と名前をつけた。

(5) ベクタープラスミド pHN153 の構築

目的のタンパク質を誘導的に発現せしめることができるかどうか確認するために、*TipA* 遺伝子のプロモーターの下流にレポーター遺伝子として *Thermoplasma acidophilum* 由来のプロリンイミノペプチダーゼ (Tamura et al., FEBS Lett. 398 101-105 [1996] : 以下 PIP と略記する) をコードする遺伝子の ORF (図中においては PIP ORF と表記) を連結し、さらにその下流に転写のリードスルーを抑制するために転写終結配列を連結した。以下に具体的に述べる (図 4)。

前記 (4) にて精製した *Streptomyces coelicolor* A3 (2) 株のゲノム DNA をテンプレートとして、配列表中の配列番号 21、22 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。その結果、*TipA* 遺伝子のプロモーター配列 (図中においては TipAp と表記) を含む 0.2 kb の増幅された DNA を得た。なおこの PCR にはプラチナ Pfx DNA ポリメラーゼを用いた。この断片を精製し、常法により 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した後、プラスミド pBluescript II SK (+) の *SmaI* 部位にサブクローンした (サブクローンされた向きは DNA の 5' 方向から *KpnI* 認識部位-*TipA* 遺伝子プロモーター配列-*SacI* 認識部位である)。このプラスミドに pHN150u と名前を付けた。

次に、プラスミド pRSET-PIP (Tamura et al., FEBS Lett. 398 101-105 [1996] : 以下 PIP と略記する) をテンプレートとして、配列表中の配列番号 2 3, 2 4 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。なお、配列表中の配列番号 2 4 のプライマーは PIP 遺伝子の終止コドンを除いて、かつタンパク質の精製を容易にするために 6×His タグが PIP タンパク質の C 末端に付くように設計されている。6×His タグは、6 つの連続したヒスチジン残基から成る連続配列で、これを融合したタンパク質は、ニッケルイオン等に高い親和性を示すようになる。従って、ニッケルイオン等を用いた金属キレートクロマトグラフィーで精製が容易になる (Crowe et al., Methods Mol. Biol. 31 371-387 [1994])。この PIP 遺伝子を含む 0.9 kb の DNA 断片を制限酵素 *Nco*I と *Spe*I で二重消化し、pHN150u の *Nco*I、*Spe*I 部位にサブクローンした結果、*TipA* 遺伝子のプロモーター配列のすぐ下流に PIP 遺伝子の ORF を含むプラスミドが作成され、pHN151u と名前を付けた。

次に、前記 (4) にて精製した *Rhodococcus erythropolis* JCM3201 株のゲノム DNA をテンプレートとして、配列表中の配列番号 2 5, 2 6 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。その結果、*ThcA* 遺伝子の転写終結配列 (Nagy et al., J. Bacteriol. 177 676-687 [1995] : 図中においては ALDht と表記) を含む DNA を得た。この 0.2kb の DNA 断片を制限酵素 *Spe*I と *Xba*I で二重消化し、pHN151u の *Spe*I、*Xba*I 部位にサブクローンした。その結果、*TipA* 遺伝子のプロモーター配列のすぐ下流に PIP 遺伝子の ORF を含み、またそのすぐ下流に *ThcA* 遺伝子の転写終結配列を含むプラスミドが作成され、pHN153 と名前を付けた。

(6) ベクタープラスミド pHN169 の構築

Rhodococcus erythropolis をプラスミドで形質転換するためには適当な形質転換マーカーが必要になる。そこで *Rhodococcus* 属細菌内で機能する強力なプロモーターの下流に薬剤耐性遺伝子を連結し、使用することとした。プロモーターとしては、*Streptomyces* 属細菌由来の Elongation factor Tu をコードする *TufI* 遺伝子プロモーターを用いることとしたが、これは同プロモーターが強力に下流の遺伝子を転写せしめるとの報告があるからである (Wezel et al., Biochim. Biophys. Acta 1219 543-547 [1994])。また、薬剤耐性遺伝子は入手が容易なテ

トラサイクリン耐性遺伝子を用いた。以下に具体的に述べる（図5）。

前記（4）にて精製した *Streptomyces coelicolor* A3 (2) 株のゲノム DNA をテンプレートとして、配列表中の配列番号 27、28 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。その結果、*Tuf1* 遺伝子のプロモーター配列（図中においては *Tuf1p* と表記）を含む 0.2 kb の増幅された DNA を得た。なおこの PCR にはプラチナ Pfx DNA ポリメラーゼを用いた。この断片を精製し、常法により 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した後、プラスミド pBluescript II SK (+) の *HincII* 部位にサブクローンした（サブクローンされた向きは DNA の 5' 方向から *KpnI* 認識部位-*Tuf1* 遺伝子プロモーター配列-*EcoRI* 認識部位である）。

このプラスミドに pHN158 と名前を付けた。

次に、プラスミド pACYC184 (Rose, Nucleic Acids Res. 16 355 [1988]) をテンプレートとして、配列表中の配列番号 29、30 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。その結果、テトラサイクリン耐性遺伝子（図中においては *Tet^r* と表記）を含む DNA を得た。この 1.3 kb の DNA 断片を制限酵素 *XhoI* と *SpeI* で二重消化し、pHN158 の *SalI*、*SpeI* 部位にサブクローンした結果、*Tuf1* 遺伝子のプロモーター配列のすぐ下流にテトラサイクリン耐性遺伝子を含むプラスミドが作成され、pHN159 と名前を付けた。

次に pHN159 に存在する制限酵素認識部位 *BamHI* を除去するため以下の作業をおこなった。まず、プラスミド pHN159 をテンプレートとして、配列表 31、32 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。なおこの DNA 断片は Pfu turbo DNA ポリメラーゼを用いたため、その末端は平滑末端である。この PCR 断片の片方の末端を *XhoI* で消化して得られた 0.5 kb の DNA 断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。一方、プラスミド pHN159 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 33、34 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。なおこの PCR には Pfu turbo DNA ポリメラーゼを用いた。この PCR 断片の片方の末端を *NotI* で消化して得られた 1.1 kb の DNA 断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。これら 2 つの PCR 断片を

同時にプラスミド pBluescript II SK (+) の *Xho*I、*Not*I 部位にサブクローンした結果、平滑末端同士で連結された部分においてはテトラサイクリン耐性遺伝子の ORF 部分であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、*Bam*HI 部位が除去された。このプラスミドに pHN165 と名前を付けた。

次に pHN159 に存在する制限酵素認識部位 *Sa*I 除去するため以下の作業をおこなった。まず、プラスミド pHN159 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 3 1、3 5 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。なおこの PCR には Pfu turbo DNA ポリメラーゼを用いた。この PCR 断片の片方の末端を *Xho*I で消化して得られた 0.8 kb の DNA 断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。一方、プラスミド pHN159 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 3 6、3 4 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。なおこの PCR には Pfu turbo DNA ポリメラーゼを用いた。この PCR 断片の片方の末端を *Not*I で消化して得られた 0.8 kb の DNA 断片を精製し、さらに常法により平滑末端側の 5' 末端を T4-ポリヌクレオチドキナーゼによりリン酸化した。これら 2 つの PCR 断片を同時にプラスミド pBluescript II SK (+) の *Xho*I、*Not*I 部位にサブクローンした結果、平滑末端同士で連結された部分においてはテトラサイクリン耐性遺伝子の ORF 部分であるが、コードされるアミノ酸が置換されることなく、*Sa*I 認識部位が除去された。このプラスミドに pHN166 と名前を付けた。

最後に以下の作業を行った。pHN166 を *Sph*I と *Spe*I で二重消化して得られた 0.9 kb の DNA 断片を pHN165 の *Sph*I、*Spe*I 部位にサブクローンした。結果、*Bam*HI と *Sa*I 両方の制限酵素認識部位を欠くテトラサイクリン耐性遺伝子クローンを取得し、このプラスミドに pHN169 と名前をつけた。

(7) ベクタープラスミド pHN170、pHN171 の構築

前記 (2) から (6) までに分離してきた遺伝子群を連結し、*Rhodococcus* 属細菌内で誘導可能な発現ベクターを構築するために以下の作業を行った (図 6)。

pHN143 を *Sac*I で消化して得られた 1.1 kb の DNA 断片を pHN136 の *Sac*I 部位にサブクローンした (サブクローンされた向きは DNA の 5' 方向から推定 *RepB* 遺伝子 ORF-*tsr* 遺伝子 ORF-アンピシリン耐性遺伝子 ORF である)。その結果できたプ

ラスミドに pHN144 と名前をつけた。

次に、pHN62 を *Xba*I と *Kpn*I で二重消化して得られた 1.1 kb の DNA 断片を pHN144 の *Xba*I、*Kpn*I 部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドに pHN152 と名前をつけた。

次に、pHN153 を *Bsr*GI と *Xba*I で二重消化して得られた 1.2 kb の DNA 断片を pHN152 の *Bsr*GI、*Spe*I 部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドに pHN154 と名前をつけた。

次に、pHN169 を *Xba*I と *Spe*I で二重消化して得られた 1.6 kb の DNA 断片を pHN154 の *Xba*I 部位にサブクローンした（サブクローンされた向きは DNA の 5' 方向から *tsr* 遺伝子 ORF-テトラサイクリン耐性遺伝子 ORF-*ThcA* 遺伝子プロモーター配列である）。その結果 *TipA* 遺伝子プロモーターの制御下に置かれた *PIP* 遺伝子を含むプラスミドが作成され、できたプラスミドに pHN170 と名前をつけた。

また組み換えタンパク質の高発現化のため、*TipA* 遺伝子プロモーター下流のリボソーム結合部位を翻訳効率の良いとされるラムダファージ *gene10* 由来の配列（Gold and Stormo, Methods Enzymol. 185 89-93 [1990]）に変化させた（図 6）。以下に具体的に述べる。

プラスミド pHN170 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 21, 37 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。その結果、*TipA* 遺伝子プロモーターとラムダファージ *gene10* 由来リボソーム結合部位からなるハイブリッドプロモーター（以下 *TipA-LG10* プロモーターと表記する：図中に置いては *TipA-LG10p* と表記）を得た。この 0.2 kb の DNA 断片を制限酵素 *Bsr*GI と *Nco*I で二重消化し、pHN170 の *Bsr*GI、*Nco*I 部位にサブクローンした。その結果 *TipA-LG10* プロモーターの制御下に置かれた *PIP* 遺伝子を含むプラスミドが作成され、できたプラスミドに pHN171 と名前をつけた。図 12 に *TipA* プロモーター配列を、図 13 に *TipA* プロモーターの *TipA-LG10* プロモーターへの改変のためのリボソーム結合部位 (RBS) 配列の改良を示す。

(8) ベクタープラスミド pTip-NH1、pTip-CH1、pTip-LNH1、pTip-LCH1 の構築前記 (7) で述べたプラスミドからレポーターである *PIP* 遺伝子を除き、マルチクローニング部位を導入するため以下の作業を行った（図 7）。

配列表中の配列番号 38、39 に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチドはマルチクローニング部位になる配列を含み、お互いに相補的な配列を持つ。これら 2 つを等モル量ずつ混合し、70 °C で 10 分処理し、20 分かけて室温に冷却し、2 本鎖化させた。その結果、その末端は *NcoI* と *SpeI* で二重消化されたベクターと連結可能な状態になり、この 2 本鎖化した合成 DNA (図中においては MCS Linker NNco と表記) を pHN170 の *NcoI*、*SpeI* 部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドに pTip-NH1 と名前をつけた。また、配列表中の配列番号 40、41 に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチド (マルチクローニング部位になる配列を含み、お互いに相補的な配列を持つ) を同様に 2 本鎖化させた合成 DNA (図中においては MCS Linker CNco と表記) を pHN170 の *NcoI*、*SpeI* 部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドに pTip-CH1 と名前をつけた。

前記 (7) で述べた *TipA* 遺伝子プロモーター配列とラムダファージ *gene10* 由来リボソーム結合部位からなるハイブリッド DNA を制限酵素 *BsrGI* と *NcoI* で二重消化し、pTip-NH1 と pTip-CH1 の *BsrGI*、*NcoI* 部位にそれぞれサブクローンした。結果得られたプラスミドに pTip-LNH1、pTip-LCH1 とそれぞれ名前を付けた。

(9) ベクタープラスミド pTip-NH2、pTip-CH2、pTip-LNH2、pTip-LCH2 の構築
前記 (8) で述べたプラスミド pTip-NH1、pTip-CH1、pTip-LNH1、pTip-LCH1 において、マルチクローニング部位の最も上流の *NcoI* 部位を *NdeI* に変更するために以下の作業を行った (図 8)。

プラスミド pHN170 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 21、42 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。その結果、*TipA* 遺伝子プロモーターを含む DNA を得た。この 0.2 kb の DNA 断片を制限酵素 *BsrGI* と *NdeI* で二重消化し、pHN170 の *BsrGI*、*NdeI* 部位にサブクローンした。結果得られたプラスミドに pHN183 と名前を付けた。

配列表中の配列番号 43、44 に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチドはマルチクローニング部位になる配列を含み、お互いに相補的な配列を持つ。これら 2 つを等モル量ずつ混合し、70 °C で 10 分処理し、20 分かけて室温に冷却し、2 本鎖化させた。その結果、その末端は *NdeI* と *SpeI* で二重消化されたベクターと連結可能な状態になり、この 2 本鎖化した合成 DNA (図中においては MCS Linker

NNde と表記) を pHN183 の *Nde*I、*Spe*I 部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドに pTip-NH2 と名前をつけた。また、配列表中の配列番号 45、46 に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチド (マルチクローニング部位になる配列を含み、お互いに相補的な配列を持つ) を同様に 2 本鎖化させた合成 DNA (図中においては MCS Linker CNde と表記) を pHN183 の *Nde*I、*Spe*I 部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドに pTip-CH2 と名前をつけた。

プラスミド pTip-LNH1 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 21、47 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。その結果、*TipA* 遺伝子プロモーターとラムダファージ *gene10* 由来リボソーム結合部位からなるハイブリッド DNA を得た。この 0.2kb の DNA 断片を制限酵素 *Bsr*GI と *Nde*I で二重消化し、pTip-NH2 と pTip-CH2 の *Bsr*GI、*Nde*I 部位にそれぞれサブクローンした。結果得られたプラスミドに pTip-LNH2、pTip-LCH2 とそれぞれ名前を付けた。

前記 (8)、(9) で作成したプラスミドのマップと、マルチクローニング部位周辺の配列をまとめて図 9 に示す。該図中、実線の矢印は *TipA* 遺伝子プロモーター中に存在する Inverted repeat 配列を示す。斜線の矢印は *ThcA* 遺伝子転写終結配列に存在する Inverted repeat 配列を示す。また、原核生物のプロモーター領域に一般的に存在し、遺伝子の転写に重要な -10 領域、-35 領域、RBS は四角で囲んである。また RBS の中でも最も重要な SD 配列 (Shine and Dalgarno, Eur. J. Biochem. 57 221-230 [1975]) は下線を引いてある。

(10) ベクタープラスミド pTip-CH1.1、pTip-CH2.1、pTip-LCH1.1、pTip-LCH2.1 の構築

前記 (8) 及び (9) で述べたプラスミド pTip-CH1、pTip-CH2、pTip-LCH1、pTip-LCH2 において、マルチクローニング部位の *Xho*I 部位以降の読み枠を市販の pET ベクター (Novagen 社) の読み枠と一致させるために以下の作業を行った (図 10)。

プラスミド pTip-CH1 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 21、48 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。その結果、*TipA* 遺伝子プロモーターとマルチクローニング部位を含む DNA を得た。この 0.3 kb の DNA 断片を制限酵素 *Bsr*GI と *Spe*I で二重消化し、pTip-CH1 の *Bsr*GI、*Spe*I 部位にサブク

ローンした。結果得られたプラスミドに pTip-CH1.1 と名前を付けた。

プラスミド pTip-CH2 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 21、48 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。その結果、*TipA* 遺伝子プロモーターとマルチクローニング部位を含む DNA を得た。この 0.3 kb の DNA 断片を制限酵素 *Bsr*GI と *Spe*I で二重消化し、pTip-CH1 の *Bsr*GI、*Spe*I 部位にサブクローンした。結果得られたプラスミドに pTip-CH2.1 と名前を付けた。

プラスミド pTip-LCH1 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 21、48 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。その結果、*TipA-LG10* プロモーターとマルチクローニング部位を含む DNA を得た。この 0.3 kb の DNA 断片を制限酵素 *Bsr*GI と *Spe*I で二重消化し、pTip-CH1 の *Bsr*GI、*Spe*I 部位にサブクローンした。結果得られたプラスミドに pTip-LCH1.1 と名前を付けた。

プラスミド pTip-LCH2 をテンプレートとして、配列表中の配列番号 21、48 に記載のプライマーを用いて、PCR による増幅を行った。その結果、*TipA-LG10* プロモーターとマルチクローニング部位を含む DNA を得た。この 0.3 kb の DNA 断片を制限酵素 *Bsr*GI と *Spe*I で二重消化し、pTip-CH1 の *Bsr*GI、*Spe*I 部位にサブクローンした。結果得られたプラスミドに pTip-LCH2.1 と名前を付けた。

(11) ベクタープラスミド pHN172、pHN173 の構築

発現の誘導が厳密に調節されているかを調べるために以下のようなコントロール実験用プラスミドを作成した (図 11)。

pHN169 を *Xba*I と *Spe*I で二重消化して得られた 1.6 kb の DNA 断片を pHN144 の *Xba*I 部位にサブクローンした (サブクローンされた向きは DNA の 5' 方向から *tsr* 遺伝子 ORF-テトラサイクリン耐性遺伝子 ORF-アンピシリン耐性遺伝子 ORF である)。その結果できたプラスミドに pHN172 と名前をつけた。

次に、pHN153 を *Bsr*GI と *Xba*I で二重消化して得られた 1.2 kb の DNA 断片を pHN144 の *Bsr*GI、*Spe*I 部位にサブクローンした。その結果できたプラスミドに pHN164 と名前をつけた。次いで、pHN169 を *Xba*I と *Spe*I で二重消化して得られた 1.6 kb の DNA 断片を pHN164 の *Xba*I 部位にサブクローンした (サブクローンされた向きは DNA の 5' 方向から *tsr* 遺伝子 ORF-テトラサイクリン耐性遺伝子 ORF-アンピシリン耐性遺伝子 ORF である)。その結果できたプラスミドに pHN173 と名前

をつけた。

pHN170 は、*TipA* 遺伝子プロモーター、その下流に *PIP0RF*、さらにその下流に *ThcA* 遺伝子転写終結配列、の 3 因子が連結された遺伝子カセット（以下 Expression cassette と表記）と、*ThcA* 遺伝子プロモーター、その下流に *TipA* 遺伝子、の 2 因子が連結された遺伝子カセット（以下 Inducer cassette と表記）両方をもつ。

pHN173 は Expression cassette のみをもち、pHN172 は両 cassette を持たない。

（12） *Rhodococcus* 属細菌の形質転換

Rhodococcus erythropolis JCM3201 株を LB 培地 100 ml にて対数増殖期に至るまで 30℃ で振とう培養する。培養液を 30 分間氷冷し、遠心分離し、菌体を回収する。これに 100 ml の氷冷滅菌水を加え、よく攪拌し、再び遠心分離し、菌体を回収する。これに 100 ml の氷冷 10%グリセリン溶液を加え、よく攪拌し、遠心分離し、菌体を回収する。この氷冷 10%グリセリン溶液での洗浄をもう一度繰り返し、菌体を 5 ml の氷冷 10%グリセリン溶液に懸濁する。400 μ l ずつ分注し、液体窒素で瞬間冷凍し、使用するまで -80℃ にて保存した。-80℃ から菌体を取り出し、氷上にて融解し、プラスミド pHN170、または pHN172、または pHN173 を 3 μ l（それぞれ約 300 ng）加えた。この菌体と DNA の混合液をエレクトロポレーションキュベット（Bio-Rad 社：0.2 cm ギャップキュベット）に移し、同社の遺伝子導入装置ジーンパルサー II を用いて、電場強度 12.5 kV/cm で、パルスコントローラーの設定はキャパシタンス 25 μ F、外部抵抗 400 Ω にてそれぞれ電気パルスを与えた。電気パルス処理した菌体と DNA の混合液を 1 ml の LB 培地に混合し、30℃ にて 4 時間培養した後集菌し、20 μ g/ml テトラサイクリン入り LB 寒天培地（寒天は濃度 1.8%）に塗布し、30℃ にて 3 日培養し、それぞれの形質転換体を得た。

〔実施例 1〕

実験方法

まず、以下の実施例 2 から実施例 12 に書かれた実験に用いた手法を列挙する。

プラスミドは全て、常法（Sambrook et al., Molecular Cloning: a laboratory manual, 2nd edition [1989], Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring

Harbor, N. Y.) に従って構築した。ポリメラーゼチェーンリアクション法（以下、PCR と略記； Saiki et al., Science 239 487-491 [1988]）には全て Pfu turbo（STRATAGENE 社製）を用いた。プラスミドから切り出した DNA 断片は 1.0% アガロースゲル電気泳動に供し、目的の DNA 断片を切り出し、QIAquick Gel Extraction Kit（Qiagen 社製）を用いて、使用説明書に準じて精製した。*Streptomyces coelicolor* A3 (2) 株、*R. erythropolis* DSM313 株のゲノム DNA の分離法、並びに *Rhodococcus* 属細菌からのプラスミド DNA の精製方法は参考例 1 に記載したものと同一である。大腸菌 ER2508 株 (New England Biolabs 社) のゲノム DNA は QIAGEN 社製 QIAGEN RNA/DNA Mini Kit を用い、使用説明書に準じて精製した。DNA 断片の 5' 末端をリン酸化する必要がある場合は東洋紡社製 T4 polynucleotide kinase を用いた。塩基配列決定には DNA シークエンサー ABI PRISM (R) 3100 Genetic Analyzer (ABI 社製) を用いた。リガーゼ反応には New England Biolabs 社製の T4 DNA ligase を用いた。

用いた主なプラスミド、菌株を表 1, 2 に示す。*Rhodococcus* 属細菌、*Streptomyces coelicolor* A3 (2) 株、大腸菌の培養は Luria Broth (LB; 1% Bacto trypton, 0.5% Bacto yeast extract, 1% 塩化ナトリウム) で行った。*Rhodococcus* 属細菌のコンピテントセル作成法、並びに形質転換法は参考例 1 に記されているが、予めプラスミドを保持している *Rhodococcus* 属細菌のコンピテントセルを作成する際には、適当な抗生物質を含んだ LB 培地で培養した菌体から行った。形質転換体を選択する際には、テトラサイクリン（液体培地では、 $8 \mu\text{g} / \text{ml}$ 、固体培地では $20 \mu\text{g} / \text{ml}$ ）、クロラムフェニコール ($34 \mu\text{g} / \text{ml}$)、アンピシリン ($50 \mu\text{g} / \text{ml}$) を用いた。

誘導型ベクターを用いて Proline iminopeptidase（以下 PIP）または、蛍光緑色タンパク質（以下 GFP）を *Rhodococcus* 属細菌にて発現させる際には、*Rhodococcus* 属細菌の形質転換体を適当な抗生物質を含む LB 培地で 30°C にて培養し、 600 nm の波長で測定したオプティカルデンシティー (O.D. 600) が 0.6 になった時点で、終濃度 $1 \mu\text{g} / \text{ml}$ になるようにチオストレプトン（溶媒はジメチルスルホキシド）を加え、さらに 16 時間培養を続けた。構成型ベクターを用いて発現させる際には、*Rhodococcus* 属細菌の形質転換体を適当な抗生物質を含

む LB 培地で 30 ℃ にて 0. D. 600 が 2. 0 になるまで培養した。

PIP のペプチダーゼ活性を測定する方法を以下に詳述する。上記のように PIP を発現させた *Rhodococcus* 属細菌の培養液を、8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の適当な抗生物質を含む LB 培地で 200 μl にメスアップし、60 ℃ にて 1 分加温する。そこに PIP の基質として 2 μl の H-Pro- β NA (100 mM ; 溶媒はジメチルスルホキシド) を加え 60 ℃ にて 20 分インキュベートする (PIP は 60 ℃ が至適温度)。PIP によって H-Pro- β NA から加水分解されて遊離した β NA を観察するために、発色剤として 134 μl の Fast Garnet GBC Salt 溶液 (和光純薬社製で濃度 0.5 mg / ml : 1 M 酢酸ナトリウムバッファー (pH 4.2)、10% Triton X-100 が溶媒) を加える。PIP が発現していなければ上記混合液は黄色を呈するが、発現していれば赤色を呈する。また、呈色した赤色を吸光分光光度計を用い、550 nm での吸光度 (A550) を測定し、PIP 活性を定量した。測定は Fast Garnet GBC Salt を加えた後、滅菌水 666 μl を加え希釈して行った。

その際、550 nm では細胞のオプティカルデンシティーも測定してしまうので、550 nm での細胞のオプティカルデンシティー (O. D. 550) は別測定し、測定時に使用した O. D. 550 に相当する値を A550 の値から差し引いて補正した値を Ac550 とする。すなわち、 $\text{Ac550} = \text{A550} - \text{O. D. 550} \times \text{PIP の活性測定に使用した培養液量 (ml)}$ で計算される。ユニット値は「20 分間の測定で得られる、培養液 1 ml あたり、O. D. 600=1 あたりの Ac550 の値」とし、「 $\text{Ac550} \div \text{PIP の活性測定に使った培養液量 (ml)} \div \text{O. D. 600}$ 」で計算した。

〔実施例 2〕

R. erythropolis に存在する新規内在性プラスミド pRE8424 の分離

本発明者は *R. erythropolis* に存在する新規内在性プラスミドを探索し、*R. erythropolis* JCM2893、*R. erythropolis* JCM2894、*R. erythropolis* DSM43200、*R. erythropolis* DSM8424 の 4 株から小型の環状プラスミドを分離し、それぞれ pRE2893、pRE2894、pRE43200、pRE8424 と名前を付けた。

これらのうち、pRE2893、pRE2894、pRE43200 の DNA 配列を一部決定したところ、本発明者が以前に *R. erythropolis* JCM2895 株から分離していた pRE2895 (参考例 1 を参照) とほぼ同一の配列を有していた。pRE2895 はプラスミドの複製に関

与する RepA、RepB タンパク質をコードする遺伝子を *RepAB* オペロンとして有しているが、これらのタンパク質は *Mycobacterium fortuitum* から分離された pAL5000 プラスミドがコードする RepA、RepB タンパク質と高度に類似しており、pRE2895 と pAL5000 が類似の様式で自律複製していることが示唆された (Stolt and Stoker, *Microbiology* 142 2795-2802 [1996], 参考例 1)。pRE2895 と pAL5000 の複製様式は明らかでないが、両プラスミドの RepA タンパク質が ColE2 プラスミドの Rep タンパク質に相同性があるため、ColE2 プラスミド同様「 θ 型」の自律複製様式を有することが考えられた (Hiraga et al., *J. Bacteriol.* 176 7233-7243 [1994])。

一方、pRE8424 は pRE2895 と全く異なる DNA 配列を有していた (配列表中の配列番号 90、図 1)。このプラスミドは 6 つのオープンリーディングフレーム (ORF ; ORF1 から ORF6) を持ち、うち ORF6 がコードするタンパク質 (図 14) はローリングサークル様式で自律複製する一群のプラスミドが持つ *Rep* 遺伝子がコードするタンパク質と相同性が高かった (Khan, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61 442-455 [1997])。中でも、*Arcanobacterium pyrogenes* 由来 pAP1 (Billington et al., *J. Bacteriol.* 180 3233-3236 [1998])、*Streptomyces lividans* 由来 pIJ101 (Kendall et al., *J. Bacteriol.* 170 4634-4651 [1988])、*Streptomyces phaeochromogenes* 由来 pJV1 (Servin-Gonzalez et al., *Microbiology* 141 2499-2510 [1995])、*Brevibacterium lactofermentum* 由来 pBL1 (Fernandez-Gonzalez et al., *J. Bacteriol.* 176 3154-3161 [1994])、*Streptomyces nigrifaciens* 由来 pSN22 (Kataoka et al., *Plasmid* 32 55-69 [1994]) と相同性が高かった (図 15)。これらのプラスミドは、いずれもローリングサークル型プラスミドの中でも pIJ101/pJV1 ファミリーに属するもので (Khan, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61 442-455 [1997])、pRE8424 もこのファミリーに属するローリングサークル型プラスミドである可能性が示唆された。以下、ORF6 は *Rep* と記載する。

一般に、ローリングサークル型プラスミドが宿主細胞内で自律複製するためには、前出の *Rep* の他に、2 本鎖複製起点 (double-stranded origin ; 以下 DS0)、1 本鎖複製起点 (single-stranded origin ; 以下 SS0) となる DNA 配列が必要で

ある。本発明者は様々な pRE8424 の変異体を作成し、*R. erythropolis* を形質転換し、様々な解析を行い、DSO、SSO 配列の所在を同定した (図 1 4)。DSO は配列表中の配列番号 90 のうちヌクレオチド番号 5514 から 5970 内に存在すると考えられたが、他のローリングサークル型プラスミドの DSO 配列との比較から、配列表中の配列番号 90 のヌクレオチド番号 5705 から 5734 の配列が最も DSO の機能に重要だと考えられた (図 1 6)。また、同定した SSO 配列を図 1 7 に示す。SSO 配列は一般に、ステム - ループ構造など高度な二次構造を持ち、さらに、pIJ101/pJV1 ファミリーのプラスミドの場合、ステム - ループ構造のループ部分に TAGCGT などからなる共通配列が存在する場合が多い。pRE8424 の SSO も高度な二次構造を持ち、ループ部分に TAGCGG 配列を持つ (図 1 7)。

本発明者は、上記 TAGCGG に変異を持つ pRE8424 の派生プラスミドが *R. erythropolis* 細胞内に大量に一本鎖 DNA として蓄積していたことを見いだした。一本鎖 DNA の蓄積はローリングサークル型プラスミドのホールマークであることから (Khan, Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61 442-455 [1997])、pRE8424 はローリングサークル様式で自律複製していることが明らかとなった。

pRE8424 の派生プラスミドが宿主細胞である *R. erythropolis* 内で自律複製するためには、*Rep*、DSO、SSO を含む 2.0 kb の領域、すなわち配列表中の配列番号 90 のうちヌクレオチド番号 3845 から 5849 までの領域、で十分であった (以下の実施例 3 参照)。

図 1 4 は pRE8424 のマップを示す。図 1 4 中には主な制限酵素認識部位が示されていて、6 つの ORF が矢印で示されている。DSO と SSO の位置が四角で示されている。

図 1 5 は pRE8424、pAP1、pBL1、pJV1、pIJ101、pSN22 の Rep タンパク質の 5 カ所の保存された領域 (Motif IV、Motif I、Motif II、Motif III、C-terminal motif; Billington et al., J. Bacteriol. 180 3233-3236 [1998] 参照) のアミノ酸配列を示す。数字は各領域間に存在するアミノ酸残基の数、即ちギャップのアミノ酸残基の数を示す。完全に保存されたアミノ酸残基は星 (*)、高度に保存された領域は 2 つの点 (:), 比較的保存された領域は 1 つの点 (.) で示した。Rep タンパク質の機能に重要とされるチロシン残基は四角で囲ってある。

図 1 6 は pRE8424、pAP1、pBL1、pJV1、pIJ101、pSN22 の DSO と考えられる配列のうち、特に保存された DNA 部分を示す。更に DSO の機能に特に重要な GG ジヌクレオチドは下線を引いてある (Billington et al., J. Bacteriol. 180 3233-3236 [1998] 参照)。

図 1 7 は pRE8424 の SS0、即ち配列表中の配列番号 9 0 のうちヌクレオチド番号 5268 から 5538 の配列と、その取りうる二次構造を示した。二次構造の予測は mfold program, version 3.0 (Michael Zuker, Washington University, St. Louis, Mo.; <http://www.bioinfo.rpi.edu/applications/mfold/old/dna/form1.cgi>) によって行った。上述の TAGCGG 配列を黒丸で示した。

〔実施例 3〕

pHN372 の構築

pRE8424 の自律複製に必須な 2.0 kb の領域には、不必要な制限酵素認識部位 *Bam*HI が存在していたので、これを除去する作業を以下のように行った。

pRE8424 をテンプレートとし、配列表中の配列番号 5 7 (sHN389)、5 8 (sHN390) に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチドプライマー（以下プライマーと略記）を用いて、PCR による DNA の増幅を行った。得られた 1.0 kb の断片は *Rep* の 5' 末端側の一部を含む。この断片の 5' 末端をリン酸化し、pBluescript II SK (+) (STRATAGENE 社製) の *Hinc*II 部位に導入し、できたプラスミドに pHN371 と名前を付けた。pRE8424 をテンプレートとし、配列表中の配列番号 5 9 (sHN391)、6 0 (sHN321) に記載のプライマーを用いて、PCR による DNA の増幅を行った。得られた 1.0 kb の断片は *Rep* の 3' 末端側の一部を含む。この断片を *Bam*HI で消化した後、5' 末端をリン酸化し、pHN371 の *Eco*RV / *Bgl*II 部位に導入した。できたプラスミドに pHN372 と名前を付けた。pHN372 は、pRE8424 の自律複製に必須な 2.0 kb の領域を持ち、かつ、pRE8424 には存在した *Bam*HI 部位は除去されている。また、*Bam*HI 部位の除去は、pRE8424 の自律複製の機能には影響しなかった。

〔実施例 4〕

pHN346 の構築

Rhodococcus 属細菌の形質転換体選択マーカーとして、参考例に示すベクターの構築においてはテトラサイクリン耐性遺伝子のみ開発していたが、複数のプラ

スミドで形質転換するためには、別の抗生物質に対する耐性遺伝子を新規に開発する必要がある。本発明者は、*R. erythropolis* DSM 313 株がクロラムフェニコールに対して耐性を有していることを見だし、耐性を付与している遺伝子を分離することとした。*Rhodococcus* 属細菌からは、すでに2つのクロラムフェニコール耐性遺伝子が分離されており (*cmrA* 遺伝子、ならびに *cmr* 遺伝子)、これらの遺伝子は互いに高い相同性を有している (De Mot et al., *Microbiology* 143 3137-3147 [1997]、Desomer et al., *Mol. Microbiol.* 6 2377-2385 [1992])。

R. erythropolis DSM 313 株のクロラムフェニコール耐性遺伝子もこれらに相同であることが予想されたので、*R. erythropolis* DSM 313 株ゲノム DNA をテンプレートとし、配列表中の配列番号 6 1 (sHN335)、6 2 (sHN336) に記載のプライマーを用いて、PCR による DNA の増幅を行った。なお、該プライマーは *cmrA* 遺伝子と *cmr* 遺伝子において最も相同性が高かった配列をもとにデザインした。その結果、0.7 kb の増幅されたバンドが確認された。この PCR 産物の DNA 配列を決定したところ、*cmrA* 遺伝子に極めて高い相同性を有していた。決定された配列を元に、配列表中の配列番号 6 3 (sHN349)、6 4 (sHN351) に記載のプライマーを設計し、インバース PCR (Ochman et al., *Genetics* 120 621-623 [1988]) にて *R. erythropolis* DSM 313 株のクロラムフェニコール耐性遺伝子の全長を分離した。テンプレートとして用いた DNA は *R. erythropolis* DSM313 株のゲノム DNA 0.1 μ g を *Sa*II で切断し、リガーゼにより自己閉環化したものである。得られた PCR 産物は 2.3 kb で、この断片の全 DNA 配列を決定した。この断片中には1つの ORF が存在し、この遺伝子に *ChlA* と名前を付けた (図中では *ChlA* と表記)。

R. erythropolis DSM 313 株ゲノム DNA をテンプレートとし、配列表中の配列番号 6 5 (sHN361)、6 6 (sHN362) に記載のプライマーを用いて、PCR による DNA の増幅を行った。得られた 0.5 kb の断片はクロラムフェニコール耐性遺伝子の 5' 末端部分を含む。この断片を *Sac*I で消化し、その 5' 末端をリン酸化した。一方、*R. erythropolis* DSM 313 株ゲノム DNA をテンプレートとし、配列表中の配列番号 6 7 (sHN363)、6 8 (sHN364) に記載のプライマーを用いて、PCR による DNA の増幅を行った。得られた 1.3 kb の断片はクロラムフェニコール耐性遺伝子の 3' 末端部分を含む。この断片を *Spe*I で消化し、その 5' 末端をリン酸化した。

これら2つのDNA断片を同時に pBluescript II SK (+) の *SacI* / *SpeI* 部位に導入し、できたプラスミドに pHN346 と名前を付けた。pHN346 は全長のクロラムフェニコール耐性遺伝子を含むが、該 ORF 中にもともと存在していた *EcoRI* 部位が除かれている（ただし、コードするタンパク質のアミノ酸配列は変化しない）。

〔実施例5〕

Proline iminopeptidase (PIP) をレポーター遺伝子として有する誘導型発現ベクターの構築；pHN171、pHN379、pHN348、pHN380 の構築

pHN346（実施例4）から 1.8 kb のクロラムフェニコール耐性遺伝子を含む断片を *XbaI* と *SpeI* で切り出し、pHN154（特願 2002-235008）の *XbaI* 部位に導入した。この結果できたプラスミドに pHN347 と名前を付けた。pHN171（参考例を参照）から 1.1 kb の断片を *BsrGI* と *SpeI* で切り出し、pHN347 の *BsrGI* / *SpeI* 部位に導入した。出来たプラスミドに pHN348 と名前を付けた。

pHN171 も pHN348 も pTip ベクター（参考例を参照）の MCS にレポーター遺伝子、PIP が導入された発現ベクターであるが、pHN171 がテトラサイクリン耐性遺伝子を形質転換マーカーとして持つのに対して、pHN348 がクロラムフェニコール耐性遺伝子を持っていることのみが異なる。また、いずれのプラスミドも *TipA* 遺伝子プロモーターの下流に元来存在していたリボソーム結合部位配列（*TipA*-RBS）は翻訳効率の良い、バクテリオファージ gene 10 由来のリボソーム結合部位配列に変更されている（*TipA-LG10* プロモーター；参考例を参照）。PIP の C の末端側には、タンパク質の精製を容易にするために 6×His タグが付くように設計されている。6×His タグは、6つの連続したヒスチジン残基から成る連続配列で、これを融合したタンパク質は、ニッケルイオン等に高い親和性を示すようになる。従って、ニッケルイオン等を用いた金属キレートクロマトグラフィーで精製が容易になる（Crowe et al., Methods Mol. Biol. 31 371-387 [1994]）。

上述の pHN171 と pHN348 の DNA 配列のうち、pRE2895 に由来するプラスミドの自律複製に必須な 1.9 kb の領域を、pRE8424 に由来するプラスミドの自律複製に必須な 2.0 kb の領域に変更するために以下の作業を行った。

pHN171 をテンプレートとし、配列表中の配列番号 69 (sHN368)、70 (sHN373) に記載のプライマーを用いて、PCR による DNA の増幅を行った。得られた 0.2 kb

の断片はチオストレプトン耐性遺伝子 (*tsr* 遺伝子; 図中では Thior と表記) (Bibb et al., Mol. Gen. Genet. 199 26-36 [1985]) の 5' 末端部分を含む。この断片を *Bsr*GI と *Cla*I で消化し、pHN171 と pHN348 の *Bsr*GI / *Cla*I 部位にそれぞれ導入した。この結果出来たプラスミドにそれぞれ pHN357 と pHN358 と名前を付けた。pHN372 (実施例 3) から 2.0 kb の pRE8424 に由来するプラスミドの自律複製に必要な領域を含む断片を *Bsr*GI と *Hpa*I で切り出し、pHN357 と pHN358 の *Bsr*GI / *Hpa*I 部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミドに pHN379、pHN380 とそれぞれ名前を付けた。

〔実施例 6〕

pTip ベクターの構築

pHN171、pHN348、pHN379、pHN380 (実施例 5) の PIP 遺伝子の代わりに、MCS を導入し、8 種類の pTip ベクターを構築した過程を示す。なお、今回作成した、pTip ベクターのうち、4 つ (pTip-RT1、pTip-RT2、pTip-RC1、pTip-RC2; 後述) は、参考例 1 に記載の pTip ベクターとは、*Rhodococcus* 属細菌でプラスミドが自律複製するのに必要な DNA 領域が異なり、参考例 1 に記載の pTip ベクター全てと *Rhodococcus* 属細菌内での不和合性を起こさない (後述)。また、残りの 4 つ (pTip-QT1、pTip-QT2、pTip-QC1、pTip-QC2; 後述) は、参考例 1 に記載の pTip ベクターとは MCS の配列が一部異なっている。

配列表中の配列番号 7 1、7 2 に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチドは MCS 部位になる配列を含み、お互いに相補的な配列を持つ。これら 2 つを等モル量ずつ混合し、70 °C で 10 分処理し、20 分かけて室温に冷却し、2 本鎖化させた (MCS type 1)。その結果、その末端は *Nco*I と *Spe*I で二重消化されたベクターと連結可能な状態になり、この 2 本鎖化した合成 DNA を pHN379、pHN380 の *Nco*I / *Spe*I 部位にそれぞれサブクローンした。その結果できたプラスミドに pTip-RT1、pTip-RC1 とそれぞれ名前をつけた。配列表中の配列番号 7 3、7 4 に記載の合成オリゴデオキシリボヌクレオチドを同様に 2 本鎖化させ (MCS type 2)、一方、pTip-LNH2 (参考例 1 を参照) から 0.2 kb の *TipA* 遺伝子プロモーターと LG10-RBS を含む断片を *Bsr*GI と *Nde*I で切り出した。これら 2 つの DNA 断片を同時に、pHN379 と pHN380 の *Bsr*GI / *Spe*I 部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミド

に pTip-RT2、pTip-RC2 と名前を付けた。pTip-RT1 から 0.3 kb の *TipA* 遺伝子プロモーター、LG10-RBS、MCS type 1 を含む断片を *Bsr*GI と *Spe*I で切り出し、pHN171 と pHN348 の *Bsr*GI / *Spe*I 部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミドに pTip-QT1、pTip-QC1 と名前を付けた。pTip-RT2 から 0.3 kb の *TipA* 遺伝子プロモーター、LG10-RBS、MCS type 2 を含む断片を *Bsr*GI と *Spe*I で切り出し、pHN171 と pHN348 の *Bsr*GI / *Spe*I 部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミドに pTip-QT2、pTip-QC2 と名前を付けた。

図 18-1 に pTip ベクター(pTip-QT1、pTip-QT2、pTip-RT1、pTip-RT2、pTip-QC1、pTip-QC2、pTip-RC1、pTip-RC2) のマップを示す。該図中、Thior はチオストレプトン耐性遺伝子を、Tuf1p は Tuf1 遺伝子プロモーターを、Tetr はテトラサイクリン耐性遺伝子を、Chlr はクロラムフェニコール耐性遺伝子を (各 pTip-ベクターは Tuf1p-Tetr または Chlr いずれか一つを持つ)、ALDHp は *TipA* 遺伝子 (*TipA*) を転写せしめる *ThcA* プロモーターを、Ampr はアンピシリン耐性遺伝子を、ColE1 は大腸菌の複製起点を、ALDHt は *ThcA* 遺伝子転写終結配列を、MCS はマルチクローニング部位を (各 pTip-ベクターは MCS type1 または MCS type 2 のいずれか一つを持つ)、TipAp は *TipA* 遺伝子プロモーターを、TipA-LG10p は *TipA*-LG10 プロモーターを、*RepA&B* は pRE2895 由来のプラスミドの *R. erythropolis* 内での自律複製に必須な領域を、*Rep* は pRE8424 由来のプラスミドの *R. erythropolis* 内での自律複製に必須な領域を (各 pTip-ベクターは *RepA&B* または *Rep* のいずれか一つを持つ) 示す。なお、実施例 9 に書かれた pNit ベクター (後述) の図が該図、右半分に記してあり、記号などは上記のものと同一である。

図 20 は、*TipA*-LG10 プロモーター - MCS - *ThcA* 遺伝子ターミネーターの DNA 配列を示す。該図中、実線の矢印は *TipA* 遺伝子プロモーター中に存在する Inverted repeat 配列を示す。斜線の矢印は *ThcA* 遺伝子転写終結配列に存在する Inverted repeat 配列を示す。また、原核生物のプロモーター領域に一般的に存在し、遺伝子の転写に重要な -10 領域、-35 領域は四角で囲んである。また、四角で囲まれた TATAAT 配列は *TipA* 遺伝子プロモーターから *Nit* プロモーターを作成したときに導入した変異を示す (実施例 7 に詳述)。

〔実施例 7〕

pHN231 の構築

まず本発明者は、*TipA* 遺伝子プロモーターに変異を導入して、誘導型から構成型プロモーターに改変することとした。*TipA* 遺伝子プロモーター配列中の「Inverted repeat」領域にチオストレプトン - *TipA* タンパク質複合体が結合し、自らの遺伝子の転写を促進することは以前から知られていた (Holmes et al., EMBO J. 12 3183-3191 [1993])。そこで、本発明者は該 DNA 領域に、inverted repeat 構造を破壊する変異を導入したら、*TipA* 遺伝子プロモーターの転写活性に何らかの変化が現れるのではないかと考え、様々な *TipA* 遺伝子プロモーター変異体を作成した。それらのうち、*TipA* 遺伝子プロモーターの所謂-10 領域 (Fenton and Gralla, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98 9020-9025 [2001]) に変異を導入したもの (図 19 ; CAGCGT から TATAAT への変異) では、チオストレプトン非存在下でも、レポーター遺伝子の発現が観察された (図 20 ; 実施例 10 に詳述)。なお、この TATAAT からなる DNA 配列は、大腸菌において非常に強力なプロモーターとして機能する DNA 配列中の-10 領域によく見られる配列である。以上のことからこの変異 *TipA* 遺伝子プロモーターは構成型プロモーターであると結論された。また、この構成型プロモーターに *Nit* (Non-Inducible *TipA*; 図中では *Nitp* と表記) プロモーターと名前を付けた。

Nit プロモーターを構築した過程を以下に示す。pHN150u (参考例 1 を参照) をテンプレートとし、配列表中の配列番号 75 (sHN217)、76 (sHN218) に記載のプライマーを用いてインバース PCR にて DNA の増幅を行った。なお、pHN150u は、p Bluescript II SK (+) の MCS に、野生型 *TipA* 遺伝子プロモーターがクローン化されたプラスミドで、また上記 2 つのプライマーはその 5' 末端がそれぞれリン酸化されている。このインバース PCR 断片をリガーゼ反応により自己閉環化し、結果出来たプラスミドに pHN231 と名前を付けた。pHN231 は *Nit* プロモーターが p Bluescript II SK (+) の MCS にクローン化された形になっている。

〔実施例 8〕

PIP をレポーター遺伝子として有する構成型発現ベクターの構築 ; pHN407、pHN385、pHN409、pHN389 の構築

pTip-NH1 (参考例 1 を参照) をテンプレートとし、配列表中の配列番号 77

(sHN395)、78 (sHN396) に記載のプライマーを用いて、PCR による DNA の増幅を行った。得られた 1.6 kb の断片はテトラサイクリン耐性遺伝子を含む。この断片を *HpaI* と *KpnI* で消化し、pHN379 (実施例 5) の *HpaI* / *KpnI* 部位に導入した。この結果出来たプラスミドに pHN381 と名前を付けた。pHN346 (実施例 4) をテンプレートとし、配列表中の配列番号 79 (sHN397)、80 (sHN398) に記載のプライマーを用いて、PCR による DNA の増幅を行った。得られた 1.8 kb の断片はクロラムフェニコール耐性遺伝子を含む。この断片を *HpaI* と *KpnI* で消化し、pHN380 (実施例 5) の *HpaI* / *KpnI* 部位に導入した。この結果出来たプラスミドにそれぞれ pHN382 と名前を付けた。pHN231 (実施例 7) から 0.2 kb の *Nit* プロモーターを含む断片を *BsrGI* と *NcoI* で切り出し、pHN381 と pHN382 の *BsrGI* / *NcoI* 部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミドに pHN383、pHN387 とそれぞれ名前を付けた。pHN231 (実施例 7) をテンプレートとし、配列表中の配列番号 81 (sHN147)、82 (sHN376) に記載のプライマーを用いて、PCR による DNA の増幅を行った。

得られた 0.2 kb の断片は *Nit* プロモーターのうち RBS 部分は含んでいない。この断片を *BsrGI* と *XbaI* で消化し、pHN381 と pHN382 の *BsrGI* / *XbaI* 部位にそれぞれ導入した。この結果出来たプラスミドに pHN385、pHN389 とそれぞれ名前を付けた。また、この *Nit* プロモーター (RBS 部分除く) - LG10RBS のハイブリッド DNA を *Nit*-LG10 プロモーターとする。pHN171 をテンプレートとし、配列表中の配列番号 83 (sHN388)、84 (sHN120) に記載のプライマーを用いて、PCR による DNA の増幅を行った。得られた 1.9 kb の断片は pRE2895 由来の *RepAB* オペロンを含む。この断片を *BsrGI* と *HpaI* で消化し、pHN387 と pHN389 の *BsrGI* / *HpaI* 部位にそれぞれ導入した。この結果出来たプラスミドに pHN407、pHN409 とそれぞれ名前を付けた。

またコントロール実験用プラスミドとして、pHN387 から、0.2 kb の *Nit* プロモーターを *BsrGI* と *NcoI* で切り出した。この DNA 断片を pHN380 (実施例 5) の *BsrGI* / *NcoI* 部位に導入した。この結果できたプラスミドに pHN410 と名前を付けた。

〔実施例 9〕

pNit ベクターの構築

pHN407、pHN385、pHN409、pHN389（実施例 8）の PIP 遺伝子の代わりに、MCS を導入し、8 種類の pNit ベクターを構築した過程を示す。

pTip-RT1（実施例 6）から 2.2 kb の断片を *NcoI* と *KpnI* で切り出し、pHN407、pHN385、pHN409、pHN389 の *NcoI* / *KpnI* 部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミドに pNit-QT1、pNit-RT1、pNit-QC1、pNit-RC1 とそれぞれ名前を付けた。pHN385（実施例 8）をテンプレートとし、配列表中の配列番号 81（sHN147）、85（sHN160）に記載のプライマーを用いて、PCR による DNA の増幅を行った。得られた 0.2 kb の断片は *Nit-LG10* プロモーターを含む。この断片を *BsrGI* と *NdeI* で消化した。一方、pTip-RT2（実施例 6）から、2.0 kb の MCS type 2、アンピシリン耐性遺伝子、*CoIE1* を含む断片を *NdeI* と *KpnI* で切り出した。上記 2 つの DNA 断片を同時に、pHN407、pHN385、pHN409、pHN389（実施例 8）の *BsrGI* / *KpnI* 部位にそれぞれ導入した。この結果できたプラスミドに pNit-QT2、pNit-RT2、pNit-QC2、pNit-RC2 とそれぞれ名前を付けた。

図 18-2 に pNit ベクター（pNit-QT1、pNit-QT2、pNit-RT1、pNit-RT2、pNit-QC1、pNit-QC2、pNit-RC1、pNit-RC2）のマップを示す。略号等は実施例 6 に記された通りである。

〔実施例 10〕

TipA 遺伝子プロモーター、*Nit* プロモーターからの PIP の発現 pHN380、pHN410、pHN381、pHN387、pHN389 を用いて、pTip、pNit ベクター群からの遺伝子発現様式を観察した。以下に、その過程と結果を示す。

まず、*R. erythropolis* JCM3201 株を pHN380、pHN410、pHN381、pHN387、pHN389 で、形質転換した。これら形質転換体を用いて PIP のペプチダーゼ活性を測定した。結果を図 20 に示す。

図 20 中、形質転換に用いたプラスミドの名前とそれぞれの簡単な特徴が示しており、黒いバーはチオストレプトンで該形質転換体を処理したとき、網掛けのバーはチオストレプトンで該形質転換体を処理しなかったときの PIP のペプチダーゼ活性を示す。pHN380（*TipA-LG10* プロモーター - PIP からなる遺伝子カセットを pTip ベクターの骨格に持つ）での形質転換体はチオストレプトンによる遺伝子発現制御が働いているが、pHN410（*Nit* プロモーター - PIP からなる遺伝子カ

セットを pTip ベクターの骨格中に持つ)での形質転換体はチオストレプトンによる遺伝子発現制御が働いていない。また、pHN387 は pHN410 からチオストレプトン耐性遺伝子と、*ThcA* 遺伝子プロモーター - *TipA* 遺伝子からなる遺伝子カセットを取り除いた形のプラスミドであるが、このプラスミドでの形質転換体もチオストレプトンがなくても、PIP が発現していた。つまり、TipA タンパク質がなくても、*Nit* プロモーターからの遺伝子発現がおこることを意味する。pHN387、pHN389 による形質転換体を用いた結果から、RBS の配列はチオストレプトンによる遺伝子発現制御には関係ないことが示唆された。pHN381 は pHN389 の *Nit-LG10* プロモーターを *TipA-LG10* プロモーターに置換したものであるが、pHN381 での形質転換体では PIP の発現は構成的になっていない。以上のことから、*Nit* プロモーター、*Nit-LG10* プロモーターが構成型のプロモーターで、その発現に TipA タンパク質を必要としないことがわかる。

なお、pTip、pNit ベクターからの PIP の発現は 30 °C ばかりでなく、4 °C でも可能であったことを確認した。

〔実施例 11〕

pRE2895、pRE8424 由来プラスミドの自律複製に必須な領域の比較

pTip ベクターと pNit ベクター群を用いて、pRE2895、pRE8424 由来プラスミドの自律複製に必須な領域の特徴を調べた。

まず、pNit-QC2 と pNit-RC2 の *R. erythropolis* JCM 3201, *R. fascians* JCM10002, *R. opacus* DSM44193, *R. ruber* JCM3205 および *R. rhodochrous* JCM3202 に対する形質転換効率を調べた。結果を表 3 に示す。表 3 では各 1 µg のプラスミド DNA を用いて形質転換した時に、クロラムフェニコールを含む固体培地上に出現したコロニー数を示す。この結果から、*R. erythropolis* JCM 3201, *R. fascians* JCM10002, *R. opacus* DSM44193 では、効率の差はあるものの、pNit-QC2 と pNit-RC2、いずれでも形質転換が可能であることがわかった。なお、*R. ruber* JCM3205、*R. rhodochrous* JCM3202 では形質転換体は得られなかった。

次に pHN409 と pHN389 (実施例 9) で *R. erythropolis* JCM 3201, *R. fascians* JCM10002, *R. opacus* DSM44193 を形質転換した。なお、pHN409 と pHN389 の違いは自律複製に必須な領域が pRE2895 に由来するか pRE8424 に由来するか、だけで

ある。*R. erythropolis* JCM3201 において、pHN409 で形質転換した細胞と、pHN389 で形質転換した細胞とで、PIP ペプチダーゼ活性を比較したところ、ほとんど差がないか、若干 pHN409 で形質転換した細胞の方が高かった。この結果は、*R. fascians* JCM10002、*R. opacus* DSM44193 を宿主とした場合でもほぼ同様であった。また、*R. erythropolis* JCM3201 での PIP ペプチダーゼ活性よりも *R. fascians* JCM10002、*R. opacus* DSM44193 での PIP ペプチダーゼ活性の方がいずれのプラスミドを用いた場合でも低かった。

次に pNit-QC2 と pNit-RC2 の *R. erythropolis* JCM 3201 細胞内でのプラスミドコピー数を調べた。実験手法は Projan らの方法 (Projan et al., Plasmid 9 182-190 [1983]) に従った。この方法でプラスミドコピー数を計算するためには *R. erythropolis* JCM 3201 のゲノムサイズを知る必要があるが、van der Geize らによれば、*R. erythropolis* ATCC4277 株から派生した株、*R. erythropolis* RG1 株のゲノムサイズが 6 メガベースペア (Mbp) であり、かつ、*R. erythropolis* ATCC4277 株と *R. erythropolis* JCM 3201 株がほぼ同等の菌株であることから、*R. erythropolis* JCM 3201 株のゲノムサイズも 6 Mbp として計算した。結果は、pNit-QC2 が、 47 ± 5 、pNit-RC2 が、 64 ± 5 のコピー数であった。

〔実施例 12〕

プラスミド不和合性

細菌では一般に、同一の複製起点を持つ異種プラスミドは細胞内に共存できないことが多い。これはプラスミド不和合性 (plasmid incompatibility) と呼ばれる現象によるもので (Novick, Microbiol. Rev. 51 381-395 [1987])、*Rhodococcus* 属細菌と近縁の *Mycobacterium* 属でも報告されている (Stolt and Stoker, Microbiology 142 2795-2802 [1996])。本発明者は、配列の異なる 2 つの *R. erythropolis* 内在性プラスミドを分離したことから (pRE2895 と pRE8424)、複数のプラスミドを単一細胞内に共存させ、組換えタンパク質生産に利用できると考えた。そこで、まず、pTip-、pNit-ベクター群のプラスミド不和合性について調べた。

R. erythropolis JCM 3201 に対して、pNit-QC2 または pNit-RC2 で第一の形質転換を行い、さらに、これらの形質転換体細胞に対して pNit-QT2 または pNit-RT2

で第二の形質転換を行った。第二の形質転換後は、テトラサイクリンのみを含む LB 固体培地で形質転換体を選択した。結果を表 4 に示す。表 4 中、右から二番目のカラムは、各 1 μ g のプラスミド DNA を用いて第二の形質転換した時に、テトラサイクリンを含む固体培地上に出現したコロニー数を示す。一番右のカラムは、第二の形質転換後に、第一の形質転換に用いたプラスミドが残っていたコロニーの確率(%)、即ち、第二の形質転換後にテトラサイクリン耐性だったコロニーの出現率を示す。その際、調べたコロニー数は各 20 コロニー ($n=20$) である。表 4 に示されたように、同じ複製起点を持つ 2 つのプラスミドを用いた場合、第二の形質転換効率が極端に低下したこと、第二の形質転換後に第一の形質転換プラスミドが高頻度に消失していることから、不和合性を引き起こしたといえる。それに対して、別種の複製起点を持つ 2 つのプラスミドでは、第二の形質転換効率が低下しなかったこと、第二の形質転換後にも第一の形質転換プラスミドが安定に存在していることから不和合性を起こさなかったことが示唆された。つまり、pRE2895 から派生したプラスミドと、pRE8424 から派生したプラスミドは完全に「compatible」であるといえる。

〔実施例 13〕

組換えタンパク質の単一細胞内での共発現

実施例 12 に書かれたように pRE2895 から派生したプラスミドと、pRE8424 から派生したプラスミドは完全に compatible で、一つの *R. erythropolis* 細胞内に共存可能であった。このことを利用して、PIP と GFP の単一細胞内での共発現を試みた。

まず、pHN187 (参考例 1 を参照) をテンプレートとし、配列表中の配列番号 86 (sHN337)、87 (sHN338) に記載のプライマーを用いて、PCR による DNA の増幅を行った。得られた 0.2 kb の断片は GFP 遺伝子の 5' 末端側を含む。この断片を *Nco*I で消化し、この断片の 5' 末端をリン酸化した。一方、pHN187 をテンプレートとし、配列表中の配列番号 88 (sHN339)、89 (sHN340) に記載のプライマーを用いて、PCR による DNA の増幅を行った。得られた 0.5 kb の断片は GFP 遺伝子の 3' 末端側を含む。この断片を *Bgl*II で消化し、その 5' 末端をリン酸化した。これら 2 つの DNA 断片を同時に pNit-QT1 と pNit-RT1 の *Nco*I / *Bgl*II 部位にそれ

ぞれ導入し、できたプラスミドにそれぞれ pHN425、pHN426 と名前を付けた。pHN425、pHN426 は全長の GFP 遺伝子含み、GFP の C 末端側に 6×His タグが付加されるような配列が融合されている。また、GFP 遺伝子内部に存在していた *NcoI* 部位は上記作業中に除かれているが、GFP の機能に変化はない。

pHN425 と pHN389 で、*R. erythropolis* JCM3201 を共形質転換し、形質転換体をテトラサイクリンとクロラムフェニコール両方を含む培地で選択した。また、pHN426 と pHN409 で、*R. erythropolis* JCM3201 を形質転換し、共形質転換体をテトラサイクリンとクロラムフェニコール両方を含む培地で選択した。また、対照実験として、pHN425、pHN426、pHN389、pHN409 で *R. erythropolis* JCM3201 をそれぞれ形質転換した。これら 6 種類の形質転換体を実施例 1 に記載されたようにして PIP と GFP を発現させ、ニッケルイオンを用いた金属キレートクロマトグラフィーで精製した。組換えタンパク質の精製、精製前並びに精製後のサンプルの SDS ポリアクリルアミド電気泳動は以下の方法で行った。PIP の C 末端には 6×His タグがついており、Ni-NTA Superflow (Qiagen 社製) を用いて、その使用説明書に準じて精製を行った。

以下に具体的な精製法を示すが、精製の作業は 4 °C で行った。タンパク質を発現させた菌体 (20 ml 培養液分) を回収し、1 ml の NT-Buffer (50 mM Tris-HCl (pH 8.0)、100 mM 塩化ナトリウム、1 mM ジチオスレイトール) に懸濁し、1 g のガラスビーズ(直径 0.105-0.125 ミリメートル)を加えた。これを Fast-prep FP120 (SAVANT 社製) にて 6 m/秒の速度、20 秒間往復振とう運動させることで、細胞を破壊した。20,000×g にて遠心し、その上清 700 μl に、予め NT-Buffer で平衡化された Ni-NTA Superflow をベッド体積 40 μl になるように加えた。これを 1 時間回転攪拌しながら Ni-NTA Superflow ビーズと 6×His タグのついたタンパク質とを結合させた。このビーズを NT-Buffer で 4 回洗浄した後、120 μl の NTE-Buffer (50 mM Tris-HCl (pH 7.0)、100 mM 塩化ナトリウム、1 mM ジチオスレイトール、400 mM イミダゾール) に 3 回懸濁することで、ビーズから 6×His タグのついたタンパク質を溶出させた。上記サンプルのうち 10 μl を常法に従い、12% SDS ポリアクリルアミド電気泳動に供した。SDS ポリアクリルアミド電気泳動結果後、ゲルをクマシーブリリアントグリーン G-250 で染色した結果を図 2 1 に

示した。

図 2 1 中、奇数番号のレーンは細胞の粗抽出液（即ち、精製前のサンプル）、偶数番号のレーンは金属キレートクロマトグラフィーで精製した後のサンプルを示す。また、レーン 1, 2 は pHN425 と pHN389 で共形質転換した *R. erythropolis* JCM3201 からのサンプル、レーン 3, 4 は pHN426 と pHN409 で共形質転換した細胞からのサンプル、レーン 5, 6 は pHN425 で形質転換した細胞からのサンプル、レーン 7, 8 は pHN426 で形質転換した細胞からのサンプル、レーン 9, 10 は pHN389 で形質転換した細胞からのサンプル、レーン 11, 12 は pHN409 で形質転換した細胞からのサンプルである。

図 2 1 のレーン 2 と 4 に 2 本のバンドが見られることから、PIP、GFP が、単一の細胞内で共発現され、精製されたことが示された。また、共発現させたとき（レーン 2, 4）と、それぞれ単独で発現させたとき（レーン 6, 8, 10, 12）の PIP、GFP の発現量に大きな差異は見られなかった。

表 1 に実施例で用いた各プラスミドのリストを、表 2 に実施例で用いた菌株のリストを、表 3 に pNit-QC2 と pNit-RC2 の *R. erythropolis* JCM 3201, *R. fascians* JCM10002, *R. opacus* DSM44193 に対する形質転換効率を、表 4 に pNit-QC2、pNit-RC2、pNit-QT2、pNit-RT2 による *R. erythropolis* JCM 3201 への共形質転換の結果を示す。

表 1

表1 本発明に用いた主なプラスミド

分類	プラスミド名	備考	ソース
Cryptic plasmids of <i>R. erythropolis</i>	pRE2895	Source of <i>RepAB</i> (cryptic plasmid isolated from <i>R. erythropolis</i> JCM2895)	特願 2002-235008
	pRE8424	Source of <i>Rep</i> (cryptic plasmid isolated from <i>R. erythropolis</i> DSM8424)	This study
	PRE2893	Cryptic plasmid isolated from <i>R. erythropolis</i> JCM2893	This study
	PRE2894	Cryptic plasmid isolated from <i>R. erythropolis</i> JCM2894	This study
	PRE43200	Cryptic plasmid isolated from <i>R. erythropolis</i> DSM43200	This study
For Identification of DSO and SSO of pRE8424	pHN267	<i>Kan^r</i> on pGEM 3Zf(+)	This study
	pHN317	<i>Rep</i> , DSO, IR I, IR II (SSO) on pHN267	This study
	pHN345	<i>Rep</i> , DSO, mutated IR I, IR II (SSO) on pHN267	This study
	pHN362	<i>Rep</i> , DSO, IR I, mutated IR II on pHN267	This study
	pHN363	<i>Rep</i> , DSO, mutated IR I, mutated IR II on pHN267	This study
	pHN322	<i>Rep</i> , DSO, IR I, IR II (SSO) on pHN267	This study
	pHN343	<i>Rep</i> , DSO, IR II (SSO) on pHN267	This study
	pHN344	<i>Rep</i> , DSO, IR I, IR II (SSO) on pHN267	This study
	pHN324	<i>Rep</i> , IR I, IR II (SSO) on pHN267	This study
Source of <i>Rep</i> region for pTip- and pNit- vectors	pHN372	2.0-kb region originating from pRE8424 on pBluescript SK (+), <i>Bam</i> HI site is eliminated	This study
pTip-vectors	pTip-QT1	<i>P_{TipA}</i> , <i>Tet^r</i> , <i>RepAB</i> (pRE2895), MCS type 1	This study
	pTip-QT2	<i>P_{TipA}</i> , <i>Tet^r</i> , <i>RepAB</i> (pRE2895), MCS type 2	This study
	pTip-RT1	<i>P_{TipA}</i> , <i>Tet^r</i> , <i>Rep</i> (pRE8424), MCS type 1	This study
	pTip-RT2	<i>P_{TipA}</i> , <i>Tet^r</i> , <i>Rep</i> (pRE8424), MCS type 2	This study
	pTip-QC1	<i>P_{TipA}</i> , <i>Chl^r</i> , <i>RepAB</i> (pRE2895), MCS type 1	This study
	pTip-QC2	<i>P_{TipA}</i> , <i>Chl^r</i> , <i>RepAB</i> (pRE2895), MCS type 2	This study

	pTip-RC1	P_{TipA} , Chl^f , Rep (pRE8424), MCS type 1	This study
	pTip-RC2	P_{TipA} , Chl^f , Rep (pRE8424), MCS type 2	This study
<hr/>			
pNit-vectors	pNit-QT1	P_{Nit} Tet^f , $RepAB$ (pRE2895), MCS type 1	This study
	pNit-QT2	P_{Nit} Tet^f , $RepAB$ (pRE2895), MCS type 2	This study
	pNit-RT1	P_{Nit} Tet^f , Rep (pRE8424), MCS type 1	This study
	pNit-RT2	P_{Nit} Tet^f , Rep (pRE8424), MCS type 2	This study
	pNit-QC1	P_{Nit} Chl^f , $RepAB$ (pRE2895), MCS type 1	This study
	pNit-QC2	P_{Nit} Chl^f , $RepAB$ (pRE2895), MCS type 2	This study
	pNit-RC1	P_{Nit} Chl^f , Rep (pRE8424), MCS type 1	This study
	pNit-RC2	P_{Nit} Chl^f , Rep (pRE8424), MCS type 2	This study
<hr/>			
PIP expression	pHN171	6xHis-PIP in MCS of pTip-LCH1	特願 2002-235008
vectors	pHN379	6xHis-PIP in MCS of pTip-RT1	This study
	pHN348	6xHis-PIP in MCS of pTip-QC1	This study
	pHN380	6xHis-PIP in MCS of pTip-RC1	This study
	pHN407	6xHis-PIP in MCS of pNit-QT1	This study
	pHN385	6xHis-PIP in MCS of pNit-RT1	This study
	pHN409	6xHis-PIP in MCS of pNit-QC1	This study
	pHN389	6xHis-PIP in MCS of pNit-RC1	This study
	pHN410	P_{TipA} and LG10-RBS of pHN380 were substituted into P_{Nit} and wild-type TipA-RBS, respectively	This study
	pHN387	LG10-RBS of pHN389 was substituted into wild-type RBS of TipA-RBS	This study
	pHN381	P_{Nit} of pHN389 was substituted into P_{TipA}	This study
<hr/>			
GFP expression	pHN425	6xHis-GFP in MCS of pTip-QT1	This study
vectors	pHN426	6xHis-GFP in MCS of pTip-RT1	This study
<hr/>			

表 2

本発明に用いた主な菌株

属、種	菌株	ソース	適用
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	JCM2895	Japan Collection of Microorganisms	Source of pRE2895
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	DSM8424	German Collection of Microorganisms and Cell Cultures	Source of pRE8424
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	JCM2893	Japan Collection of Microorganisms	Source of pRE2893
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	JCM2894	Japan Collection of Microorganisms	Source of pRE2894
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	DSM43200	German Collection of Microorganisms and Cell Cultures	Source of pRE43200
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	JCM3201	Japan Collection of Microorganisms	Host strain to express recombinant proteins
<i>Rhodococcus fascians</i>	JCM10002	Japan Collection of Microorganisms	Host strain to express recombinant proteins
<i>Rhodococcus opacus</i>	DSM44193	German Collection of Microorganisms and Cell Cultures	Host strain to express recombinant proteins
<i>Rhodococcus ruber</i>	JCM3205	Japan Collection of Microorganisms	Host strain to express recombinant proteins
<i>Rhodococcus rhodochrous</i>	JCM3202	Japan Collection of Microorganisms	Host strain to express recombinant Proteins
<i>Streptomyces coelicolor</i>	JCM4979	Japan Collection of Microorganisms	Source of <i>dnak</i> transcription terminator
<i>Escherichia coli</i>	DH5 α		General cloning
<i>Escherichia coli</i>	ER2508	New England Biolabs	Source of <i>Kan^r</i>

表 3

pNit-QC2 と pNit-RC2 の形質転換効率

プラスミド	宿主細胞		
	<i>R. erythropolis</i>	<i>R. fascians</i>	<i>R. opacus</i>
pNit-QC2	3.8×10^5	8.2×10^2	1.6×10^4
pNit-RC2	2.8×10^5	4.0×10^2	5.2×10^2

表 4

R.erythropolis JCM 3201 株におけるプラスミド不和合性

第一の形質転換に用いたプラスミド	第二の形質転換に用いたプラスミド	第二の形質転換の効率	第一の形質転換に用いたプラスミドが残っていたコロニーの率 (%; $n = 20$)
なし	pNit-QT2	3.2×10^5	-
pNit-QC2	pNit-QT2	2.0×10^3	50
pNit-RC2	pNit-QT2	1.3×10^5	100
なし	pNit-RT2	4.4×10^4	-
pNit-QC2	pNit-RT2	3.3×10^4	100
pNit-RC2	pNit-RT2	2.4×10^2	65

本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

産業上の利用の可能性

本発明の新規なローリングサークル型の複製様式で複製し得るベクターであって、*Rhodococcus* 属細菌中で外来遺伝子を 4℃から 35℃の温度条件下で誘導物質により誘導発現しうる発現ベクターおよび外来遺伝子を誘導物質非依存的に構成的に発現し得るベクターを用いることにより、効率的に *Rhodococcus* 属細菌で外来タンパク質を産生させることができ、特に宿主微生物として低温でも増殖し得る微生物を用いることにより、通常の微生物の増殖に適した温度条件、即ち約 15℃を超える中高温で発現させることが困難であるかまたは不可能なタンパク質を発現産生させることが可能である。さらに、互いにプラスミド不和合性を起こさない少なくとも 2 種類の *Rhodococcus* 属細菌由来の発現プラスミドベクターであって、少なくとも 2 種類のプラスミドが、プラスミドの自律複製に必要な DNA 配列として、それぞれローリングサークル型複製様式をもつ DNA 配列と、pRE2895 由来のプラスミドの自律複製に必要な DNA 配列を有するベクターは不和合性の問題を起こすことなく、同一の微生物細胞中で安定に維持され、それぞれのベクターが含む外来遺伝子がコードするタンパク質を同一の微生物細胞中で共発現させることが可能である。

配列表フリーテキスト

配列 1～48：プライマー、リンカー

配列 49～56：ベクター

配列 57～89：プライマー、リンカー

配列 90：内在性プラスミド pRE8424

配列 91～106：ベクター

配列 107：改変 *TipA* 遺伝子プロモーター

請求の範囲

1. *TipA* 遺伝子プロモーターの-10 領域配列に変異を導入したプロモーターであって、チオストレプトン非依存的に構成的に下流に存在する遺伝子を発現し得る変異 *TipA* 遺伝子プロモーターの有する塩基配列からなる DNA。
2. -10 領域配列の変異が、CAGCGT 配列の TATAAT 配列への変異である請求項 1 記載の DNA。
3. 配列番号 107 で表される塩基配列を有する、請求項 2 記載の DNA。
4. 外来遺伝子を構成的に発現するためのプロモーター配列が請求項 1 から 3 のいずれか 1 項に記載の DNA の有する塩基配列であって、その下流にリボソーム結合部位配列、更にその下流に、外来遺伝子を導入可能なマルチクローニング部位配列を含む、*Rhodococcus* 属細菌用構成型発現ベクター。
5. 配列番号 101 に表される塩基配列を有する pNit-RT1、配列番号 102 に表される塩基配列を有する pNit-RT2、配列番号 105 に表される塩基配列を有する pNit-RC1、配列番号 106 に表される塩基配列を有する pNit-RC2、配列番号 99 に表される塩基配列を有する pNit-QT1、配列番号 100 に表される塩基配列を有する pNit-QT2、配列番号 103 に表される塩基配列を有する pNit-QC1、配列番号 104 に表される塩基配列を有する pNit-QC2、からなる群から選択される請求項 4 記載の *Rhodococcus* 属細菌用構成型発現ベクター。
6. *Rhodococcus* 属細菌が *R. erythropolis*、*R. fascians* および *R. opacus* からなる群から選択される、請求項 4 または 5 に記載の発現ベクター。
7. さらに大腸菌用プラスミドの自律複製に必要な DNA 領域を含み、大腸菌中で複製可能な請求項 4 から 6 のいずれか 1 項に記載の発現ベクター。
8. 請求項 4 から 7 のいずれか 1 項に記載の発現ベクターを含む形質転換体。
9. 請求項 4 から 7 のいずれか 1 項に記載の発現ベクターを用いて 4℃ から 35℃ の温度で組換えタンパク質を生産する方法。

図 1

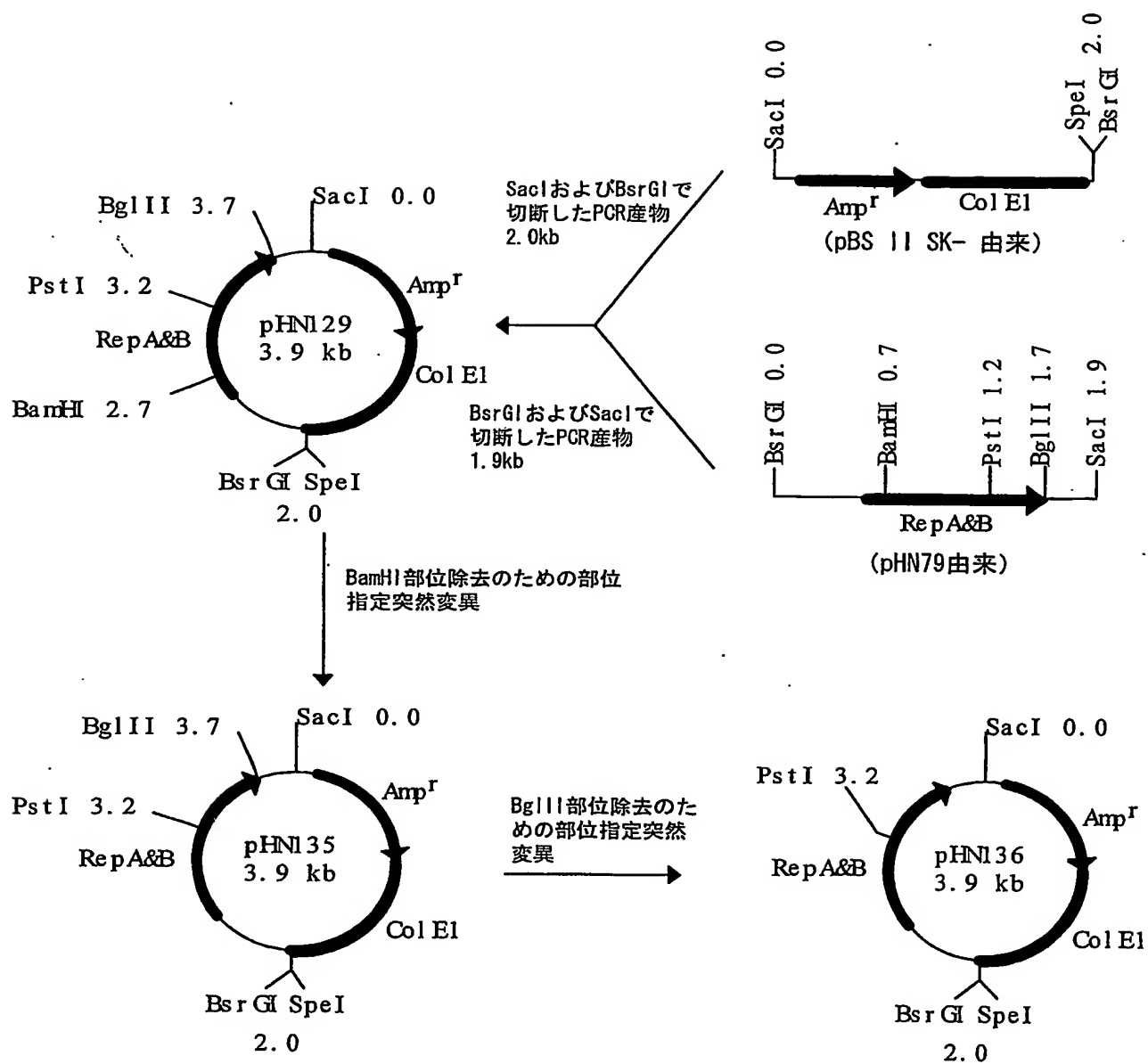


図 2

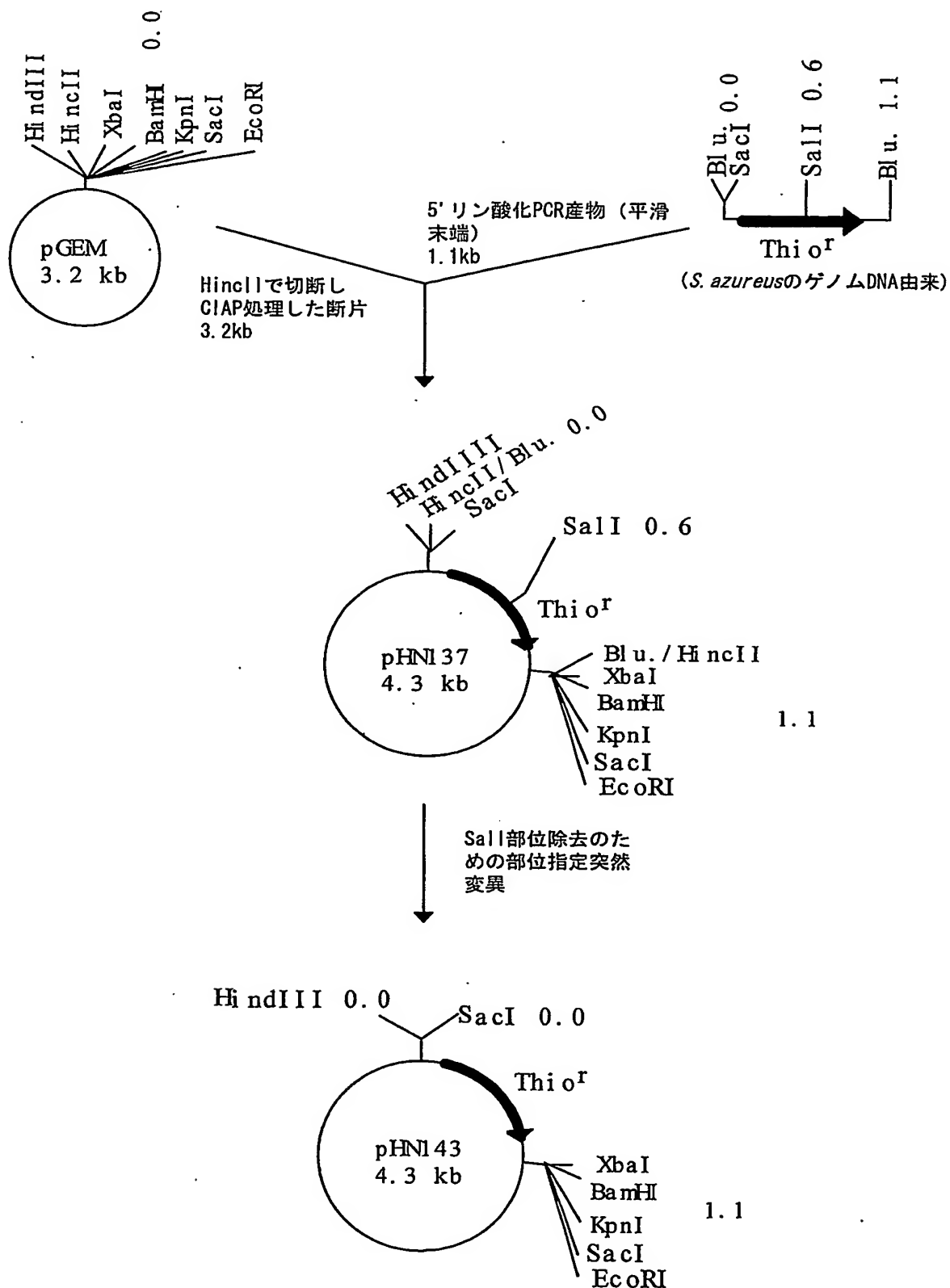


図 3

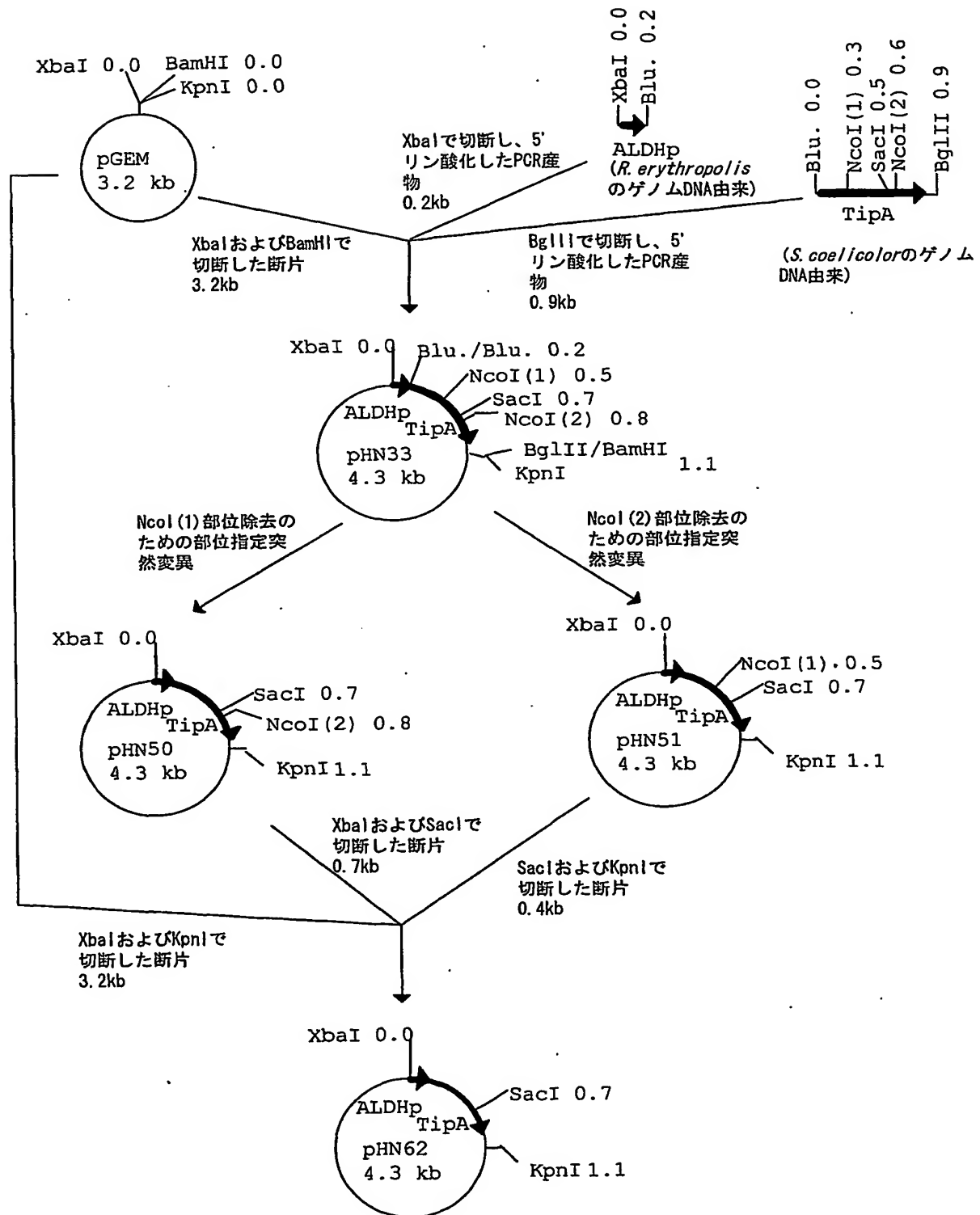


図 4

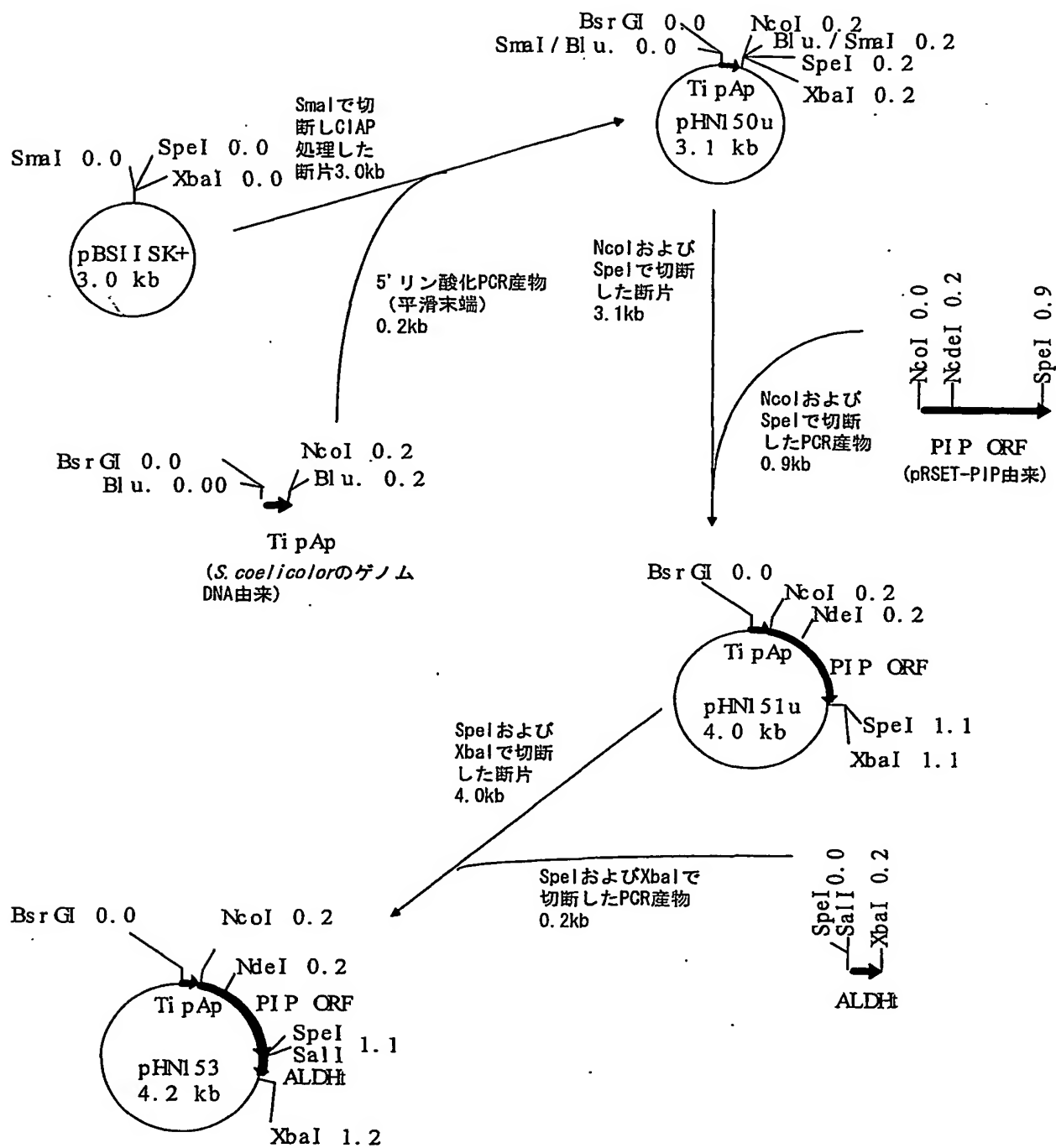


図 5

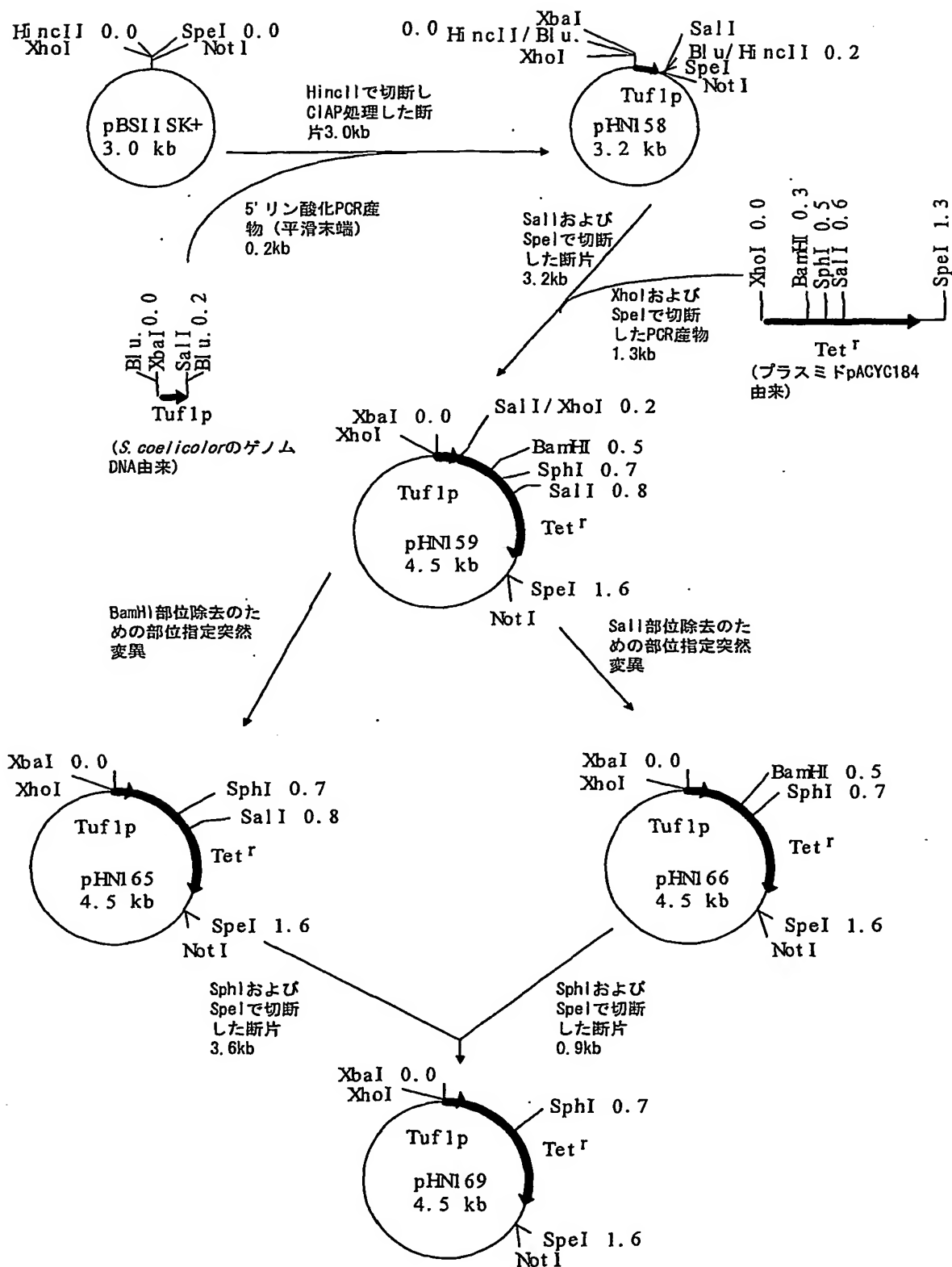


図 6

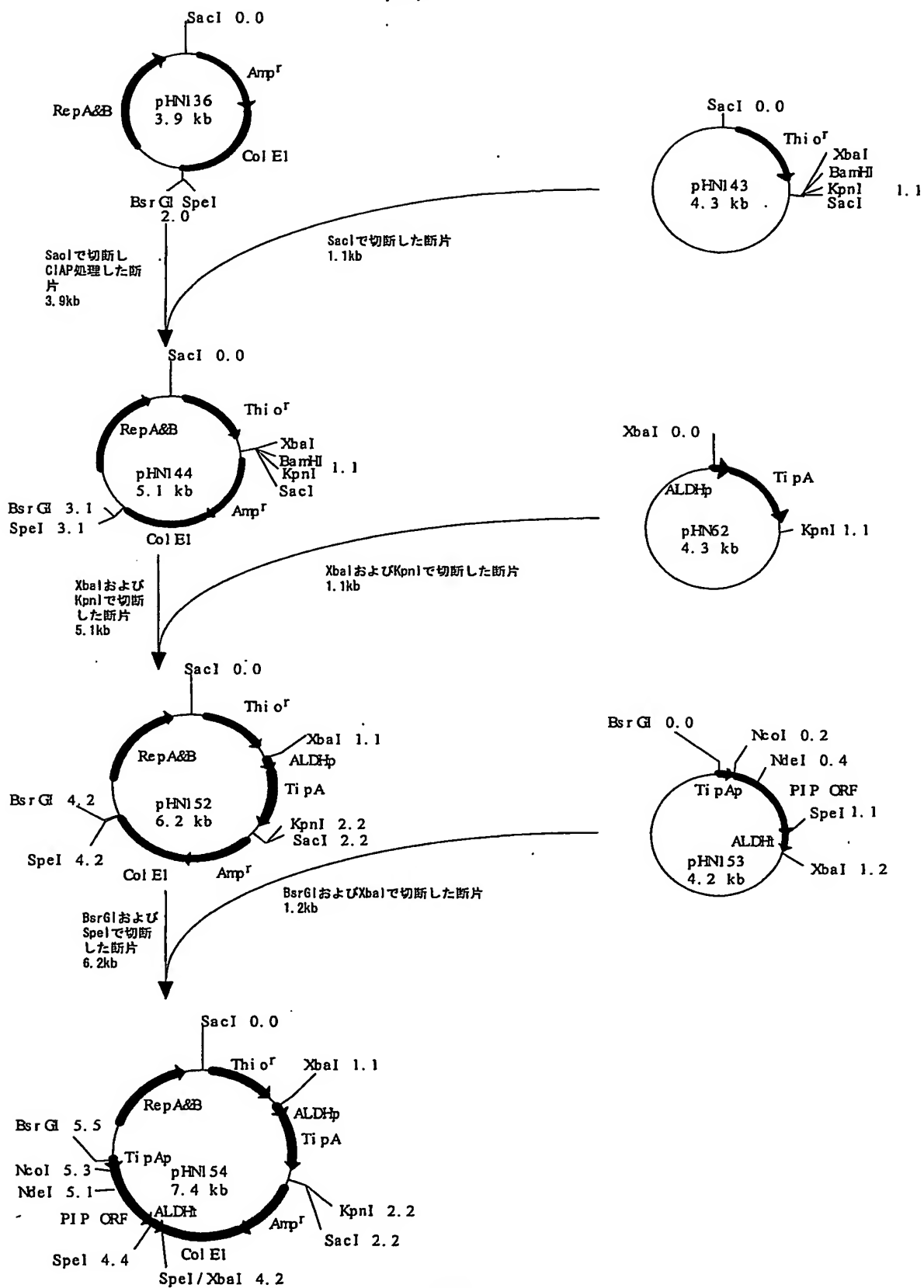


図6 (つぎ)

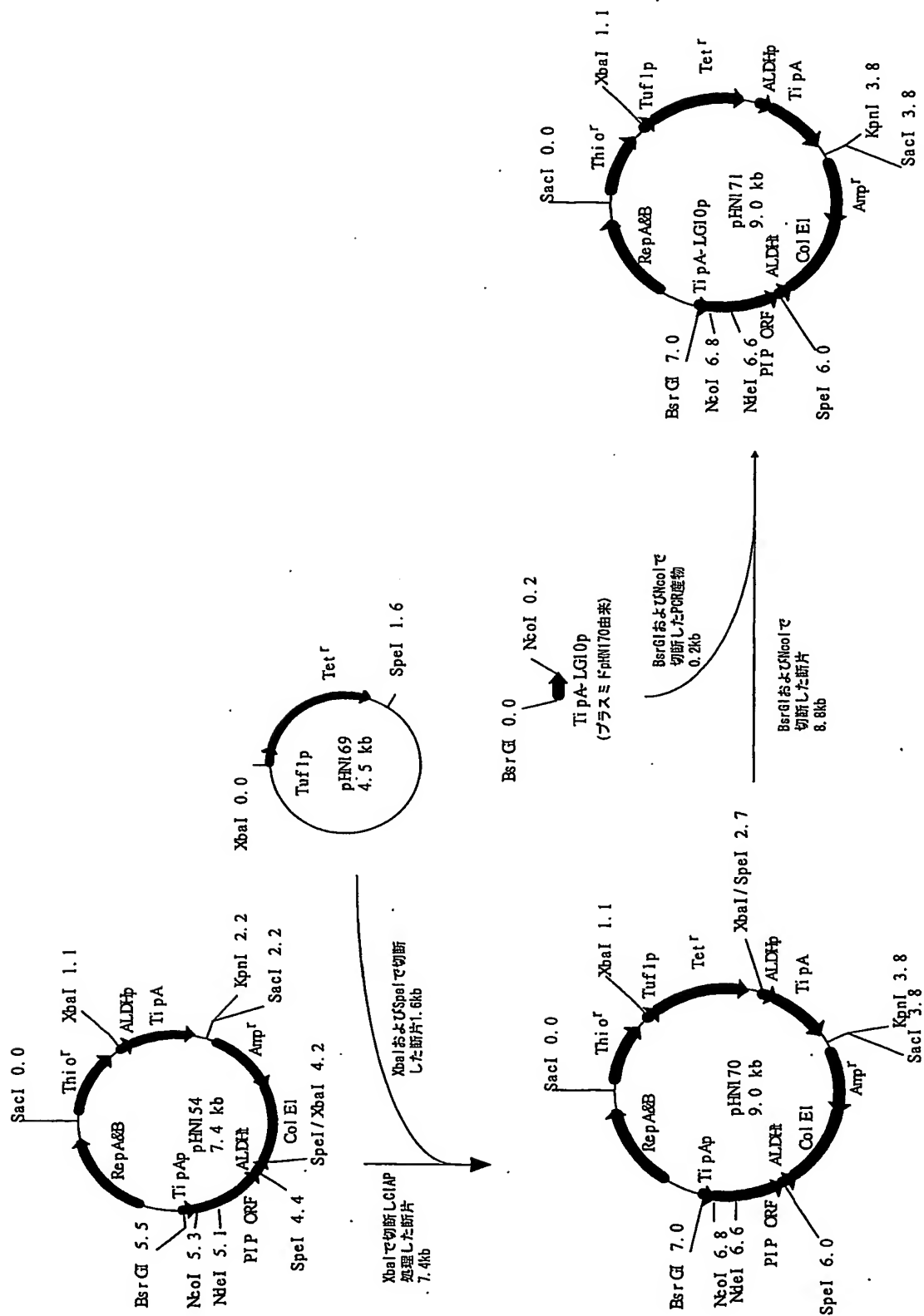


図 7

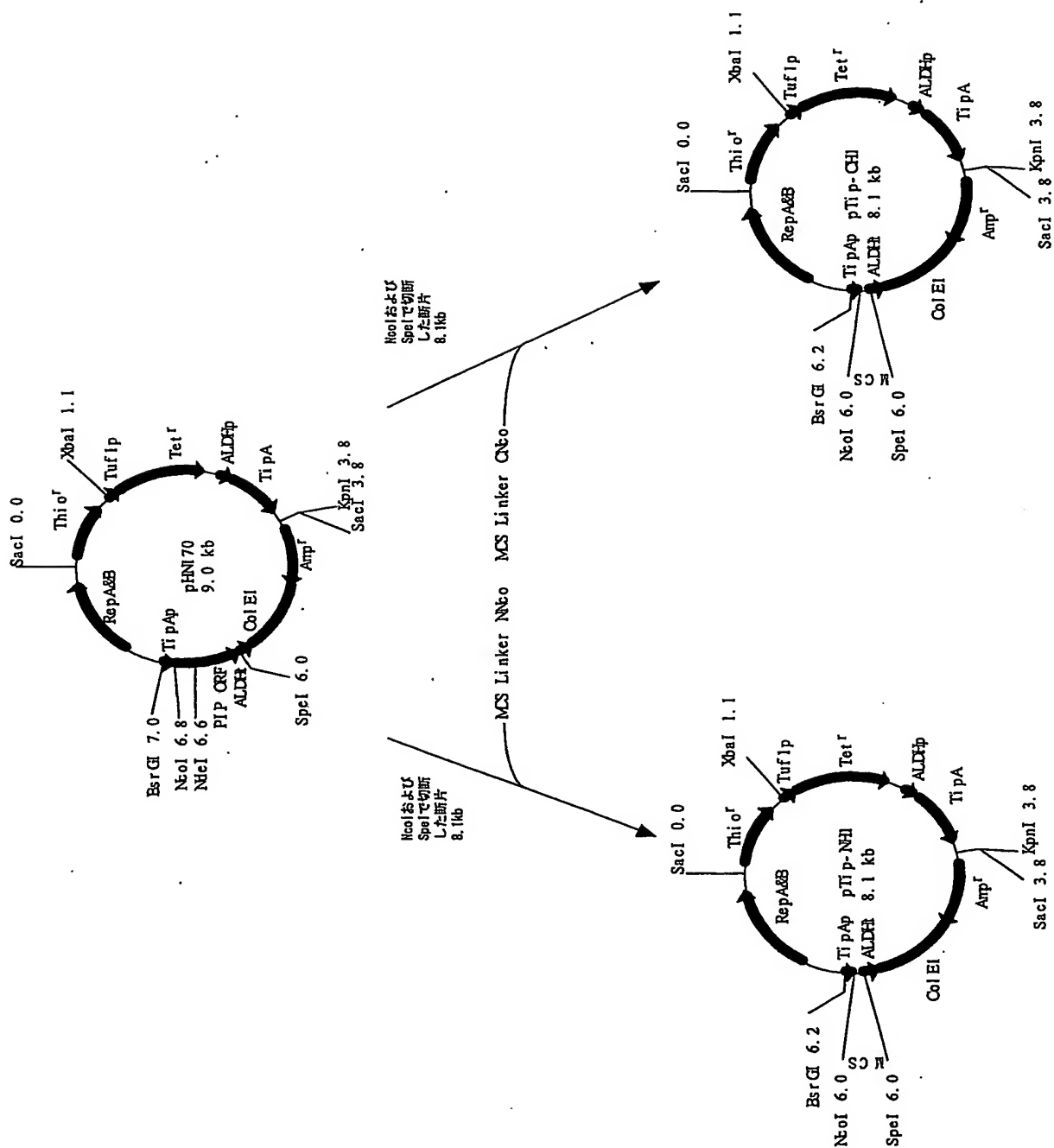


図7 (77頁)

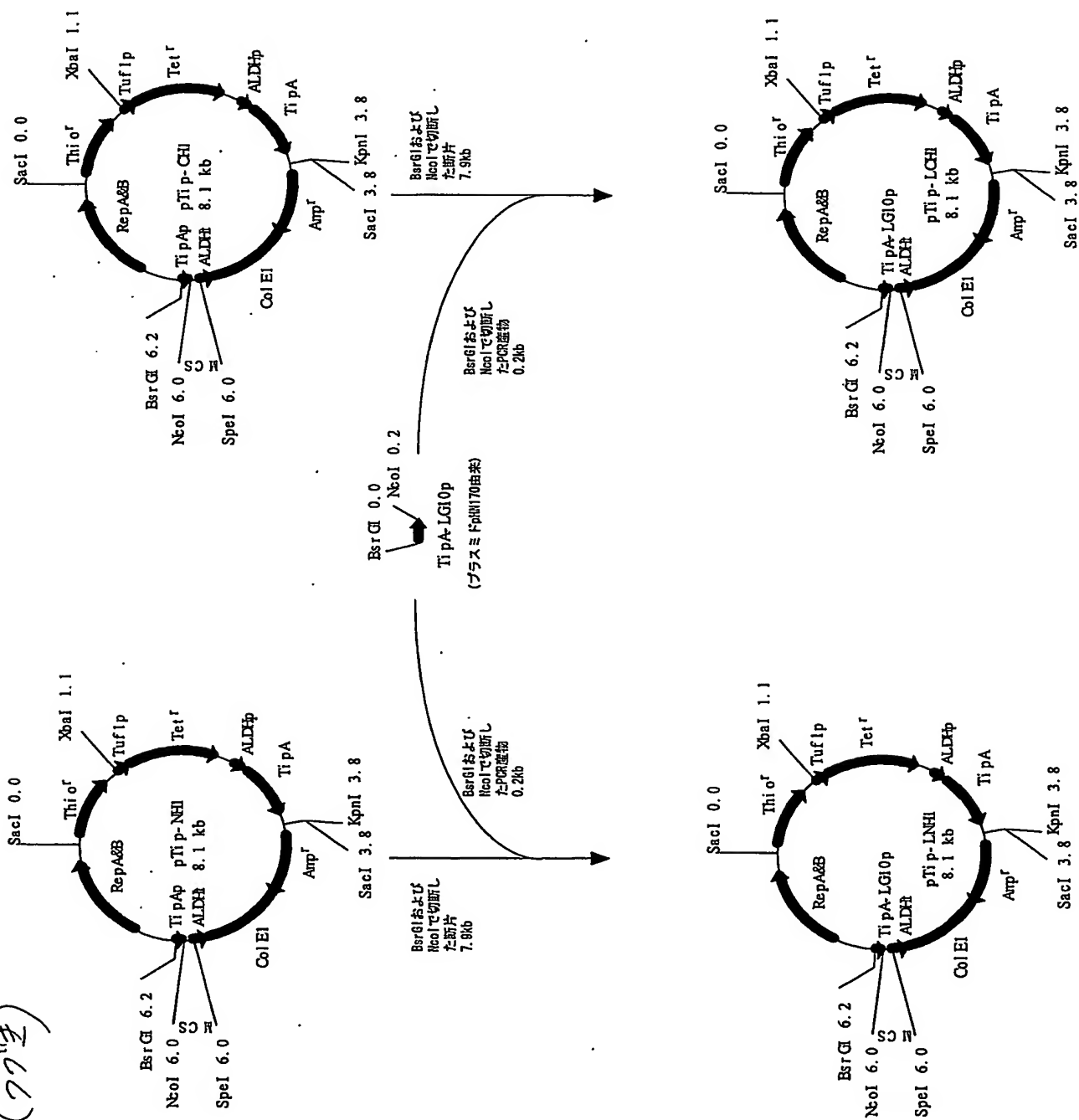


図 8

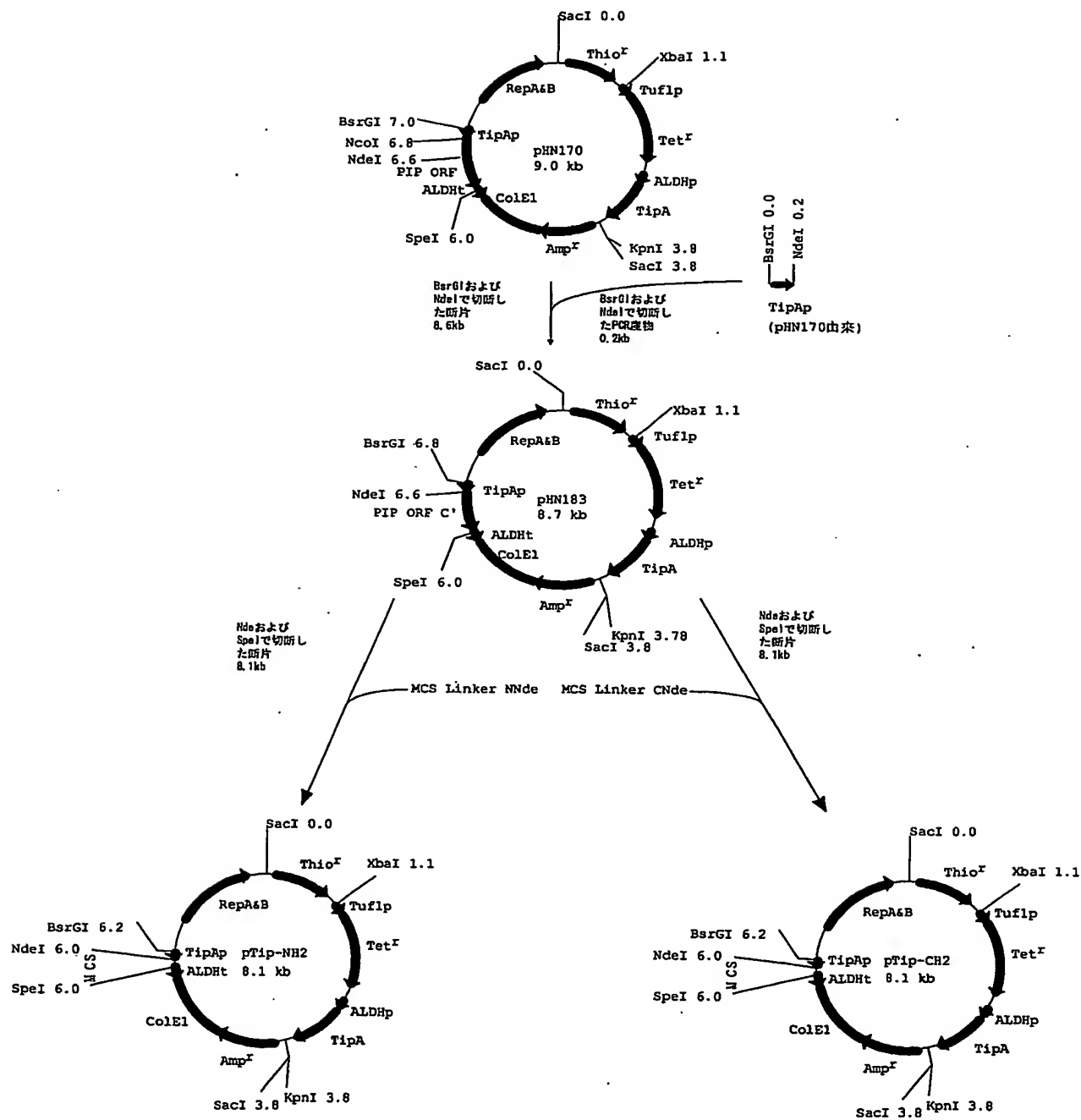
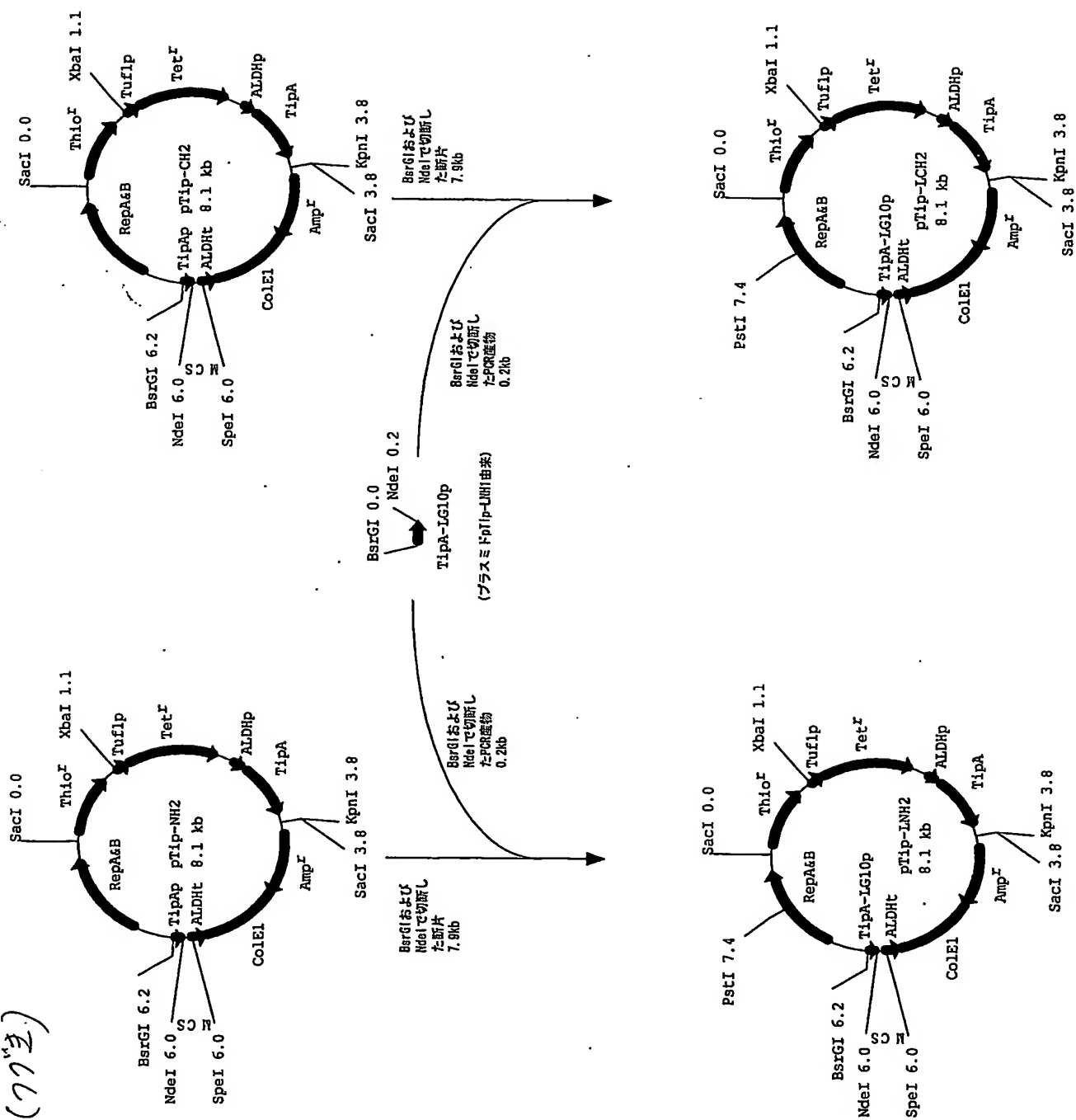
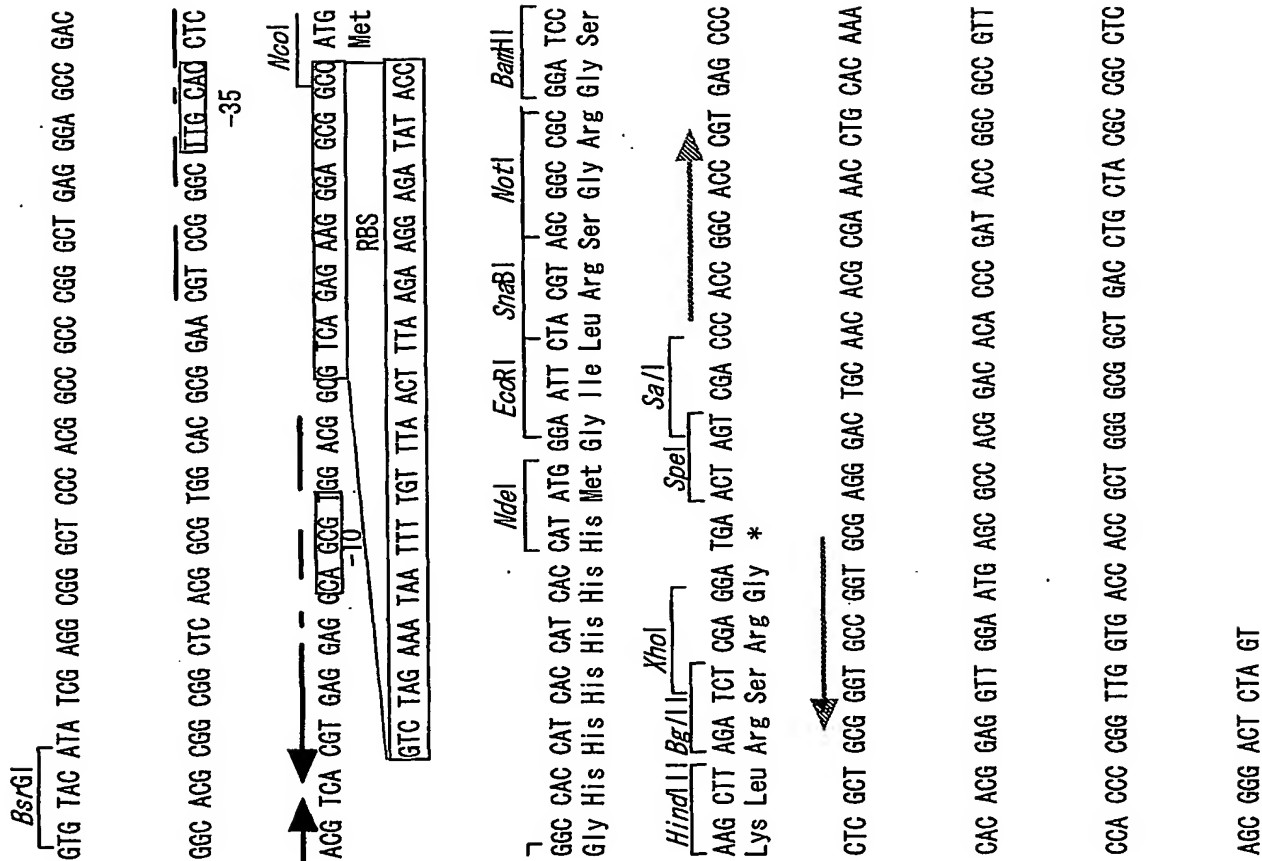


図 8 (つぎ)



9b



9c

BsrGI
GTG TAC ATA TCG AGG CGG GCT CCC ACG GCC GCG GCT GAG GGA GCC GAC

GGC ACG CGG CGG CTC ACG GCG TGG CAC GCG GAA CGT CCG GGC TTG CAG CTC
-35

ACG TCA CGT GAG GAG GCA GCG TGG ACG GCG TCA GAG AAG GGA GCG GCG ATG Met
-10 RBS NcoI
GTC TAG AAA TAA TTT TGT TTA ACT TTA AGA AGG AGA TAT ACC

EcoRI SnaBI NotI BamHI HindIII BglII XhoI
GGA ATT CTA CGT AGC GGC CGC GGA TCC AAG CTT AGA TCT CGA GGA CAT CAC
Gly Ile Leu Arg Ser Gly Arg Gly Ser Lys Leu Arg Ser Arg Gly His His

SpeI SaI
CAT CAC CAT CAC TGA ACT AGT CGA CCC ACC GGC ACC CGT GAG CCC CTC GCT
His His His His *

GCG GGT GCC GGT GCG AGG GAC TGC AAC ACG CGA AAC CTG CAC AAA CAC ACG

GAG GTT GGA ATG AGC GCC ACG GAC ACA CCC GAT ACC GGC GCC GTT CCA CCC

CGG TTG GTG ACC ACC GCT GGG GCG GCT GAC CTG CTA CCG CCG CTC AGC GGG

ACT CTA GT

9 d

BsrGI
GTG TAC ATA TCG AGG CGG GCT CCC ACG GCC CGG GCT GAG GGA GCC GAC

GGC ACG CGG CGG CTC ACG GCG TGG CAC GCG GAA CGT CCG GGC TTG CAG CTC
-35

→ ACG TCA CGT GAG GAG GCA GCG TGG ACG GCG TCA GAG AAG GGA GCG CAT *NdeI* ATG
-10 Met
RBS
G TCT AGA AAT AAT TTT GTT TAA CTT TAA GAA GGA GAT ATA CAT

NcoI *EcoRI* *SnaBI* *NotI*
GGC CAT CAC CAT CAC CAT CAC GCC ATG GGA ATT CTA CGT AGC GGC GGC GGA
Gly His His His His His Ala Met Gly Ile Leu Arg Ser Gly Arg Gly

BamHI *HindIII* *BglII* *XhoI* *SpeI* *SaII*
TCC AAG CTT AGA TCT CGA GGA TGA ACT AGT CGA CCC ACC GGC ACC CGT GAG
Ser Lys Leu Arg Ser Arg Gly *

← CCC CTC GCT GCG GGT GCC GGT GCG AGG GAC TGC AAC ACG CGA AAC CTG CAC

AAA CAC ACG GAG GTT GGA ATG AGC GCG ACG GAC ACA CCC GAT ACC GGC GCC

GTT CCA CCC CGG TTG GTG ACC ACC GGT GGG GCG GCT GAC CTG CTA CCG CGC

CTC AGC GGG ACT CTA GT

9 e

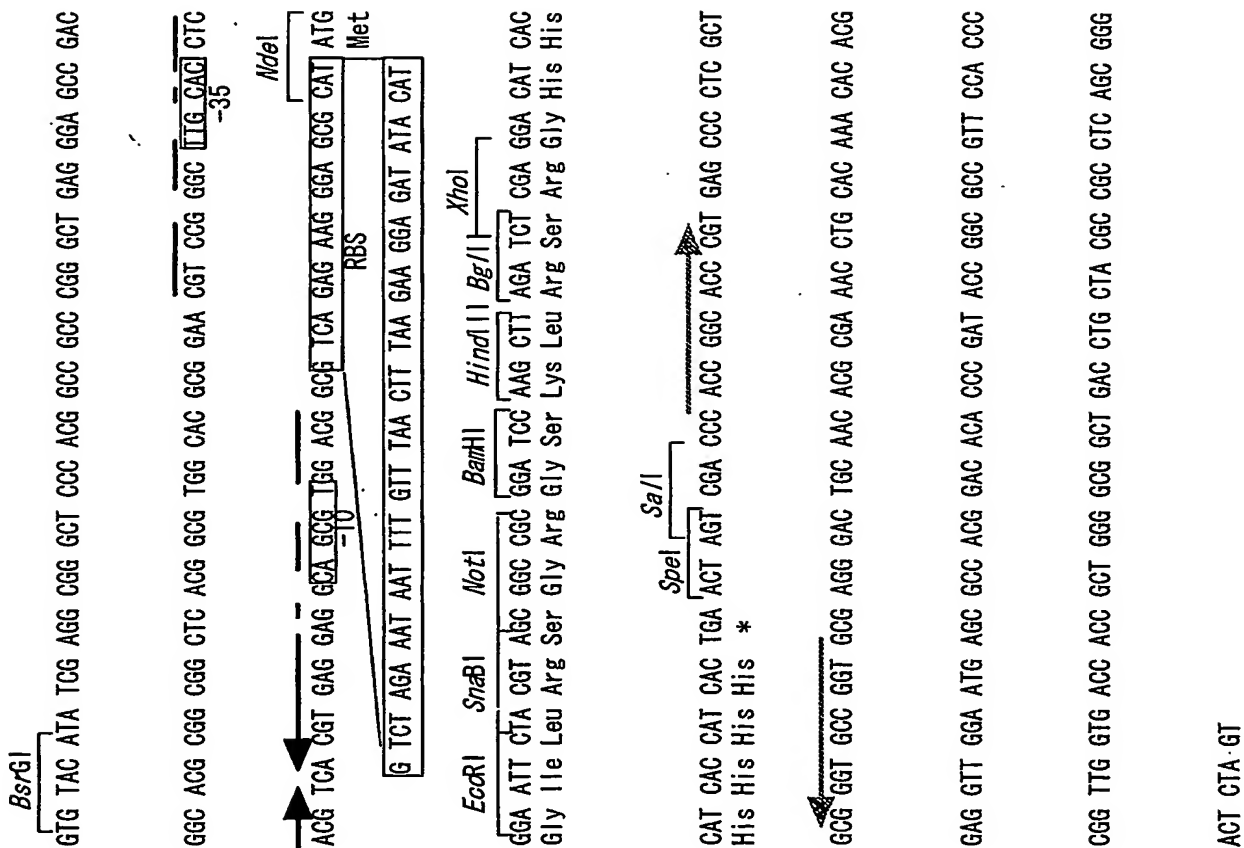


図 11

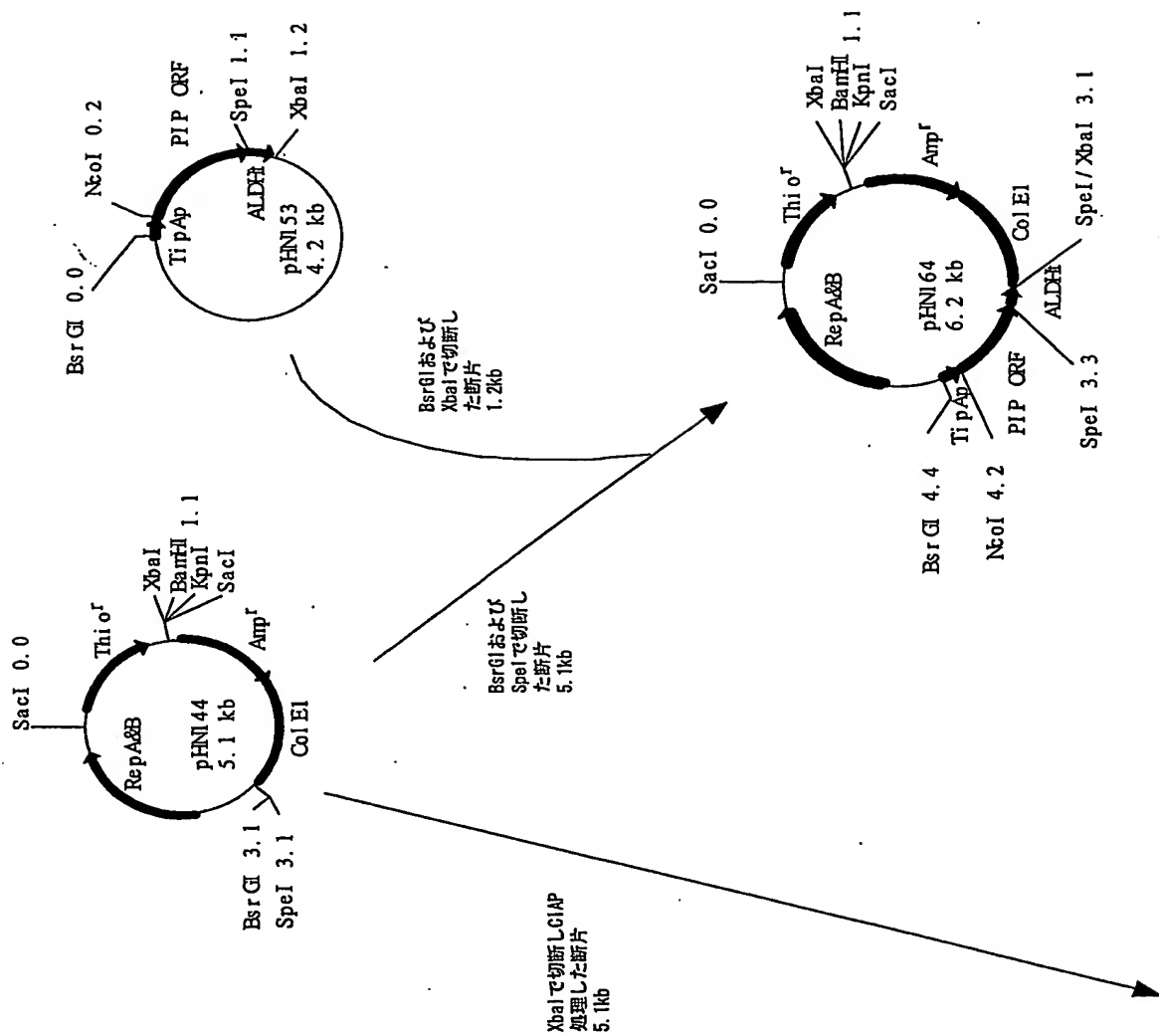
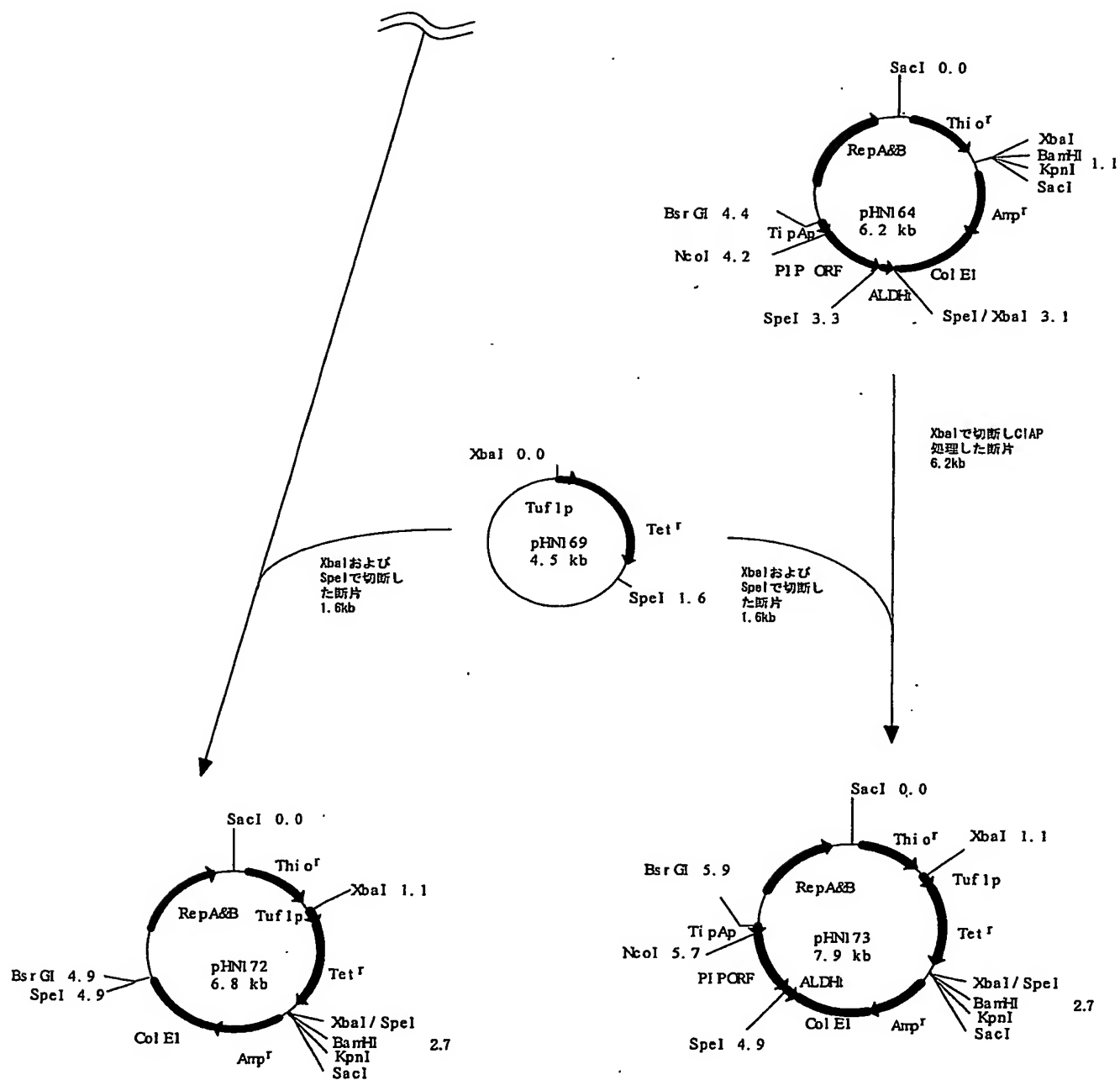


図 1 1 (つづき)



12

cgccgggctgaggagccgacggcacgcggcggtcac

ggcgtggcacgcggaacgtccgggcttgacctcacgtc
 -35

acgtgaggaggcagcgtggacggcgtcagagaaggagc
 -10 +1 SD

RBS

ggccatg

図 13

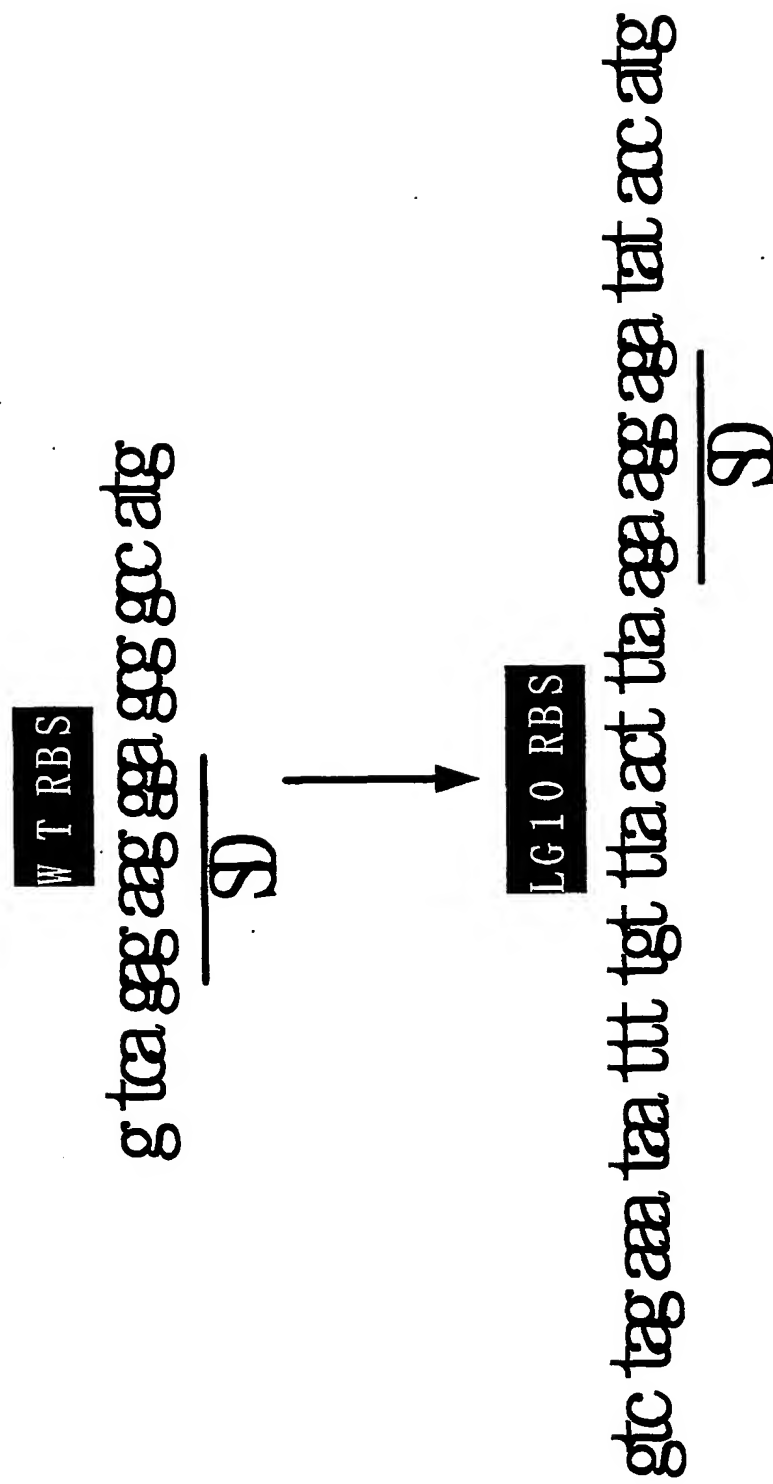
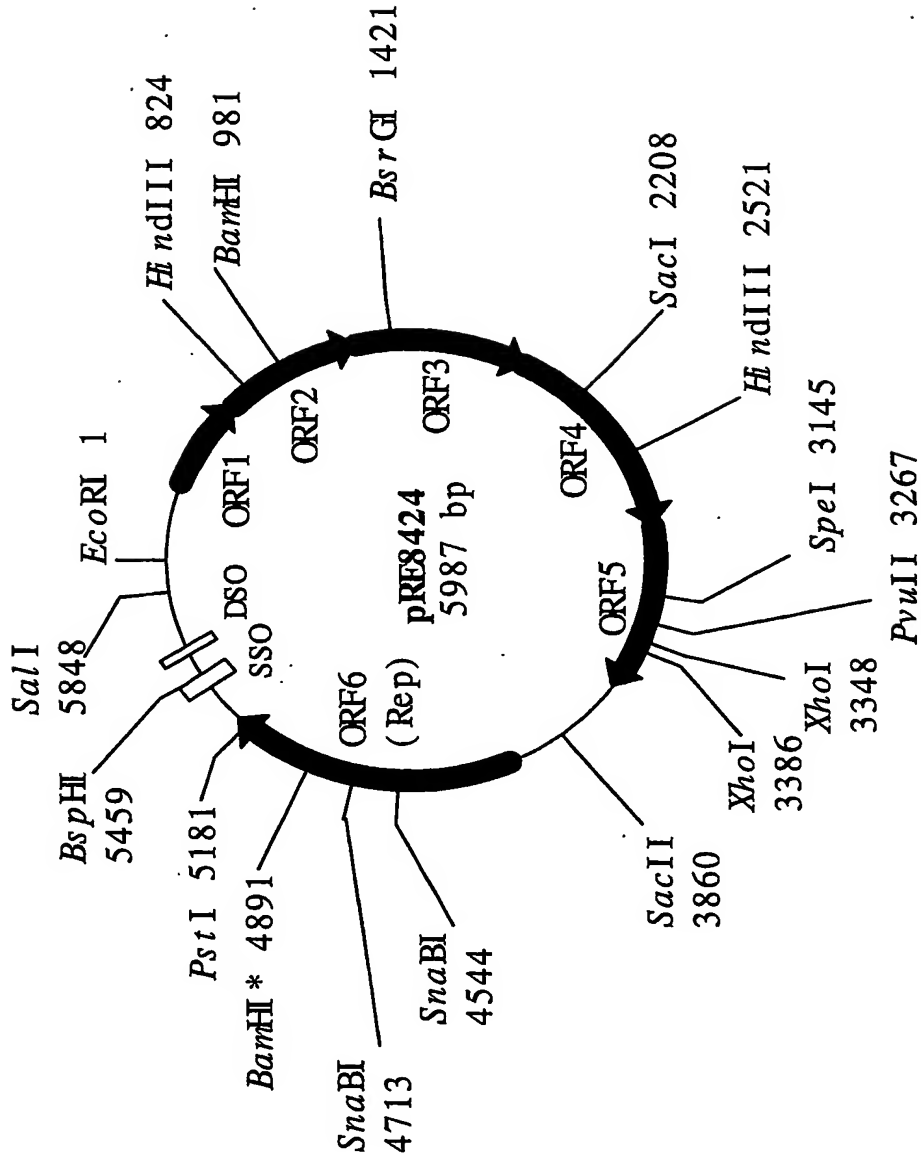


図 14



15

	Motif IV	Motif I	Motif II	Motif III
Consensus	GLXXCGXXWCPXC	Xvt XTXRH	gXXgXXr a Xe Xi Xg XXn GwHXHXh Xi X	l a XXXXXQqX
pRE8424	68 GLRSCGKGW CPCC	26 MVTMTMRH	33 GCDGYVRAVEI THGK-NGWHVHVHALL	53 LAAYLTKI AS
pAP1	138 GLHTCGSVWACPVC	27 MTLTQRH	33 GLVGYVRANEI THGK-HGWHVHSHVLI	67 I GNYVSKMQT
pBL1		76 MFVGTVRH	34 VEHTYSDYEVTD S WA-NGWHLHRNMLL	54 MAJYLAAGMS
pJV1	38 GLVRCGRI WFCPEC	27 LVFTTARH	77 GYI GMRRAAEVTRSKNGYHPHLNLLV	80 LI HMLTKNQD
pIJ101	20 GLMRCGRI WLC PVC	27 LVFTTARH	59 GYVGM RATEVTVGQI NGWPHI HAI V	69 LAHYI AKTQD
pSN22	20 GLMRCGRI WLC PVC	27 LVFTTARH	59 GYVGM RATEVTVGQI NGWPHI HAI V	69 LAHYI AKTQD
	** ** . * . * . * *	;. . . * * *	: : . . . * * * . . . :	: : . . . * * * . . . :

C-terminal motif

Consensus	WKeyEXa XXgr Rai XWxr gl r
pRE8424	276 WREFEFGSMGRRAI AWSRGLR
pAP1	365 WKEYEKASFGRRALTWSKGLR
pBL1	250 WREYEVGSKNLR S-SWSRGAK
pJV1	352 WAQYEEALAGRRAI EWRGLR
pIJ101	288 WHEYERATRGRRAI EWTRYLR
pSN22	288 WHEYERATKGRRAI EWTRYLR
	* * * * . * * . . . :

図 16

```

pRE8424 5705 CGATGCGAGCG-GA-CCCCCT---AGGTGGGGGAG-
pAP1      2378 CAGGTATGC-G-GA-AAACCTT-AGCAACA-
pBL1      1314 GAAATACAA-GTGA-ACACCTCTAAGCAACCGCA-
pJV1      3375 CTGCAAAAGCGA-CCCCCT---AGGTAAAGGGTT
pIJ101    1346 GAGCAAAAGCGA-ACACCTT-CCCAAGAAA-
pSN22     7805 GACCAAAAGCGTCTCCCCCTT-CCCAAGAAA-

```

Nicking site

DSO

図 17

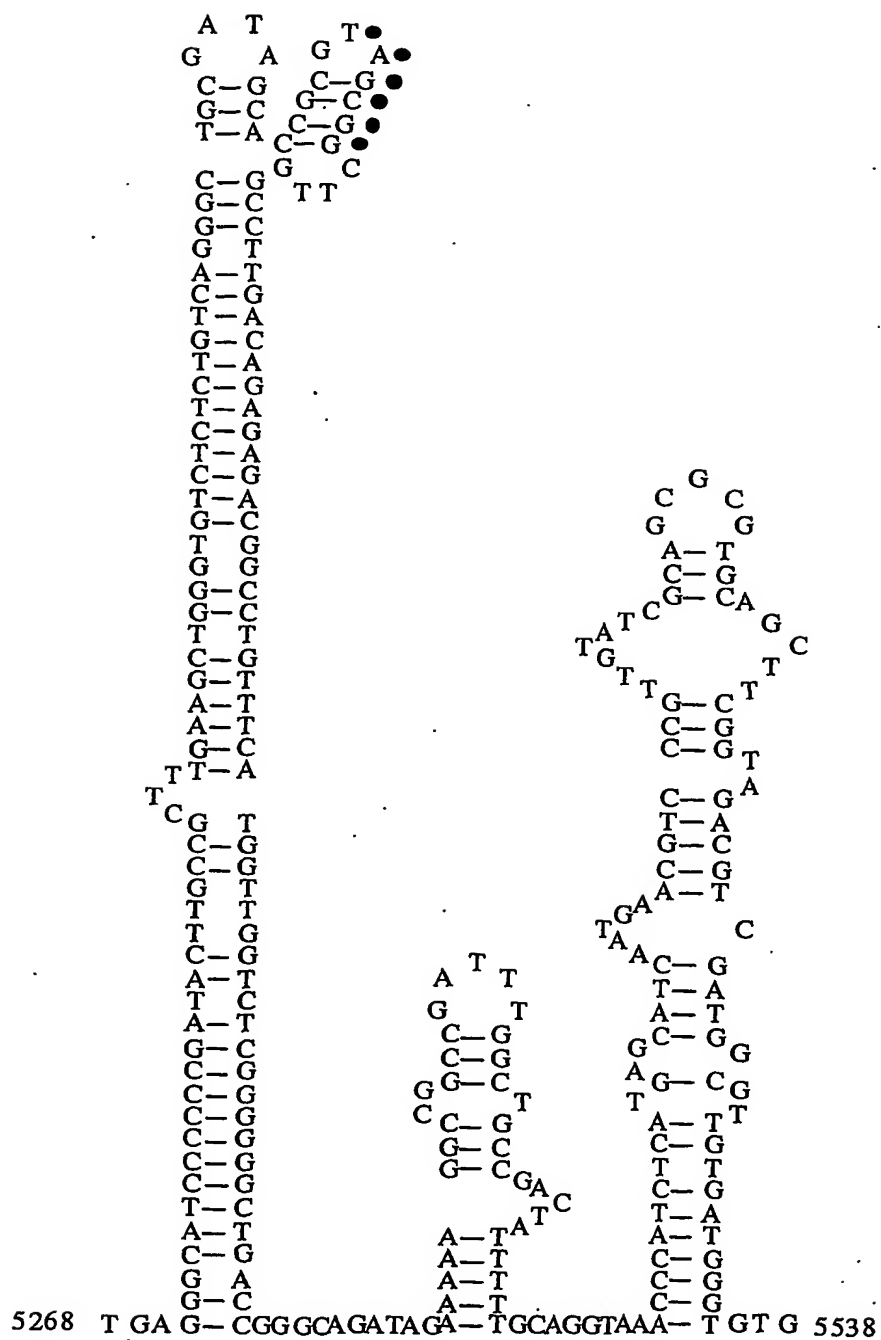


図 18-1

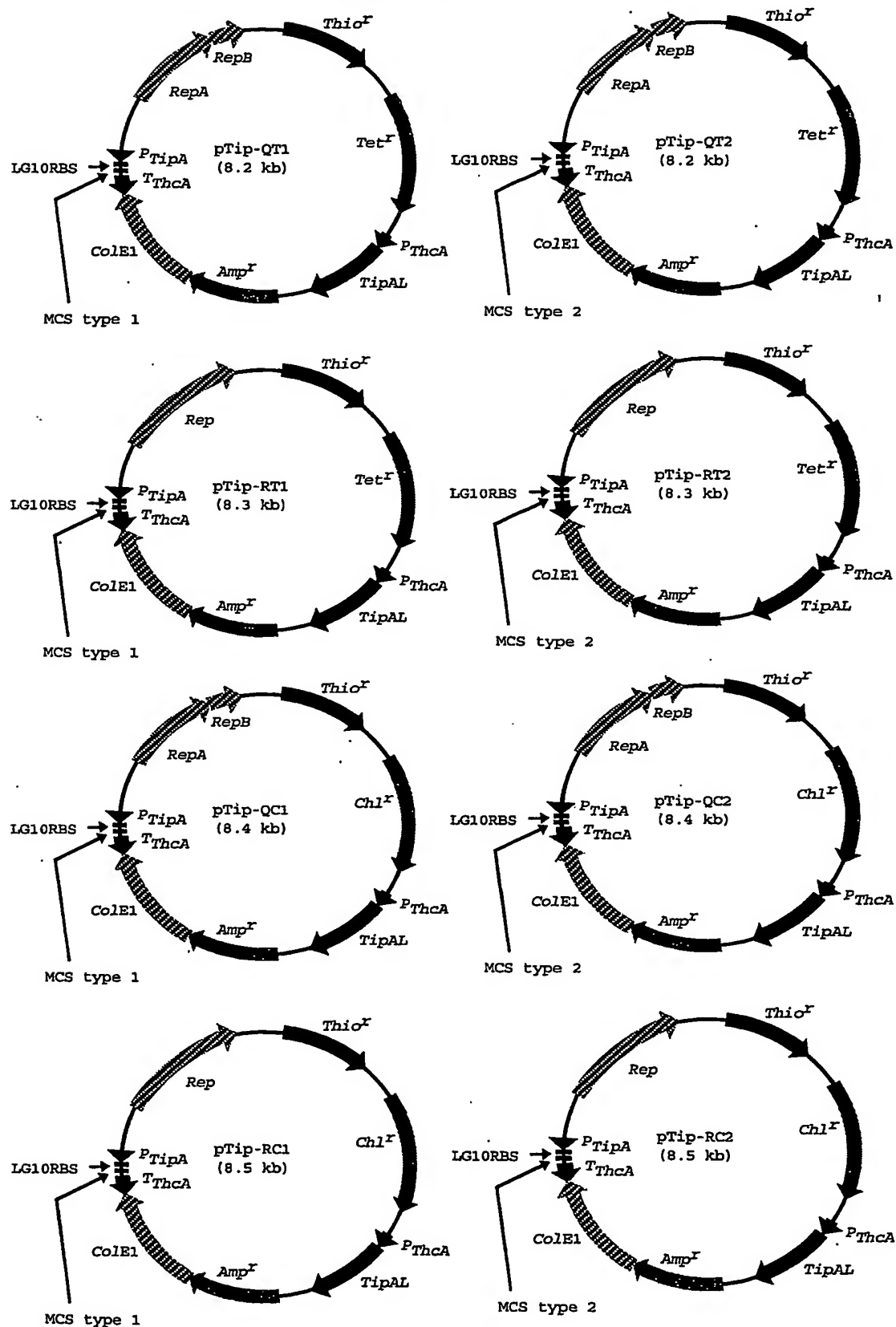
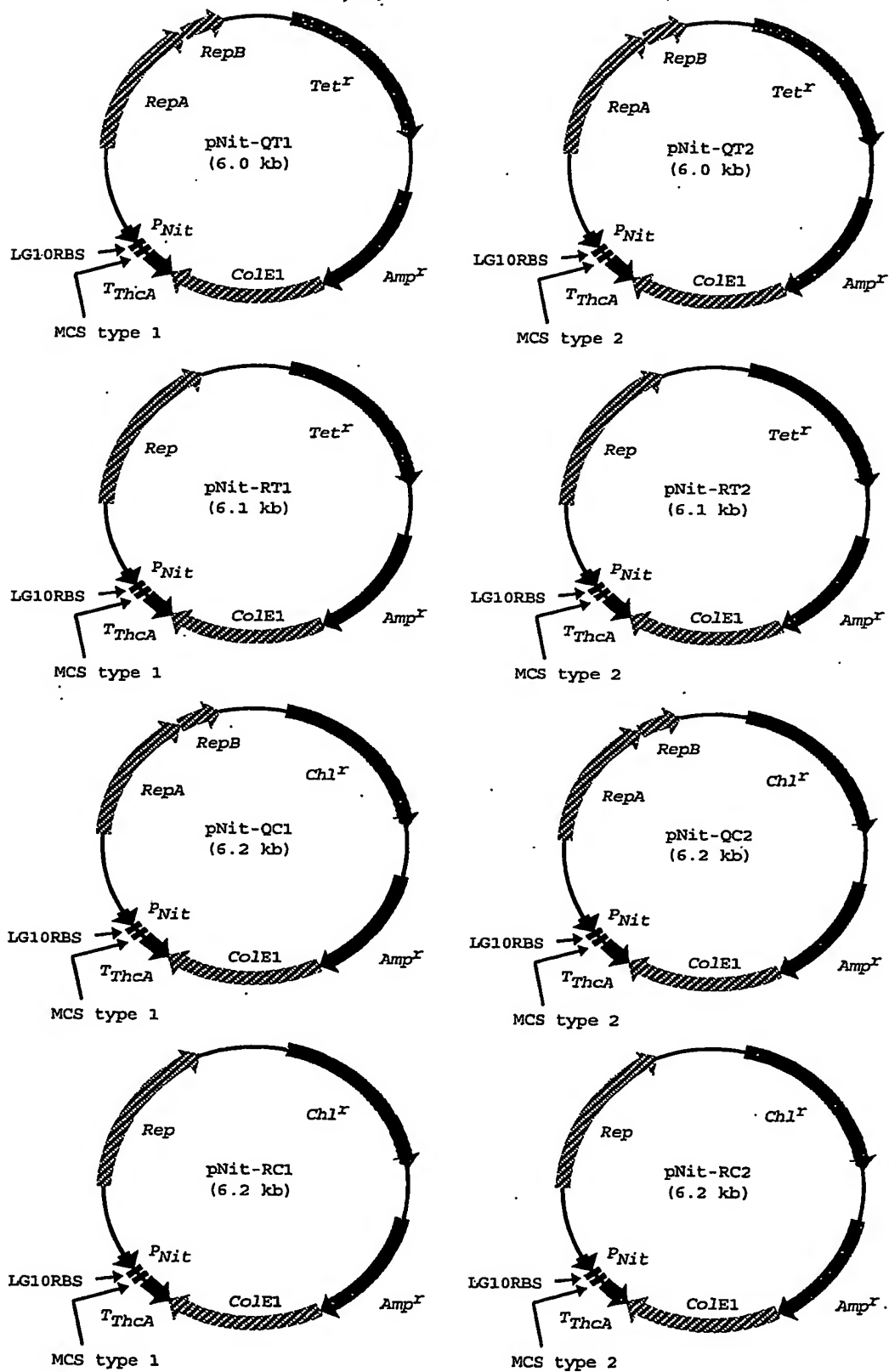


図 18-2



九十一

Ti pA-LGI0p or Nit-LGI0p

BsrGH

TTG TAC ATA TGG AGG GGG GGT CCC ACG GGC GGC GGT CAG GGA GGC GAC GGC ACG GCG CTC ACG GCG TGG CAC GCG GAA GGT CCG GGC

←————→

TTG CAC CTC ACG TCA CGT GAG GAG GCA GGG TGG ACG GCG TCT ACA AAT TTT GTT TAA CIT TAA GAA GAA GAT ATA
TA TAA I

-35

535

TA TAA T

-10

MCS

Type 1

[illegible]

Type 2

[illegible]

ALDH1

SpeI SalI

ACT AGT CGA CCC ACC GGC ACC GGT GAG CCC CTC GCT GCG GGT GGC AGG GAC TGC AAC ACG CGA AAC CTG CAC AAA CAC ACG GAG GTT
CGA ATC AGC GTC ACG GAC ACA CCC GAT AOC GGT GGC GUT CGA CCC CGG TTG GTC AOC AOC GCT GCG GCG GCT GAC CTG CTA CGC CGC CTC ACG

GGG ACT CTA GT

20

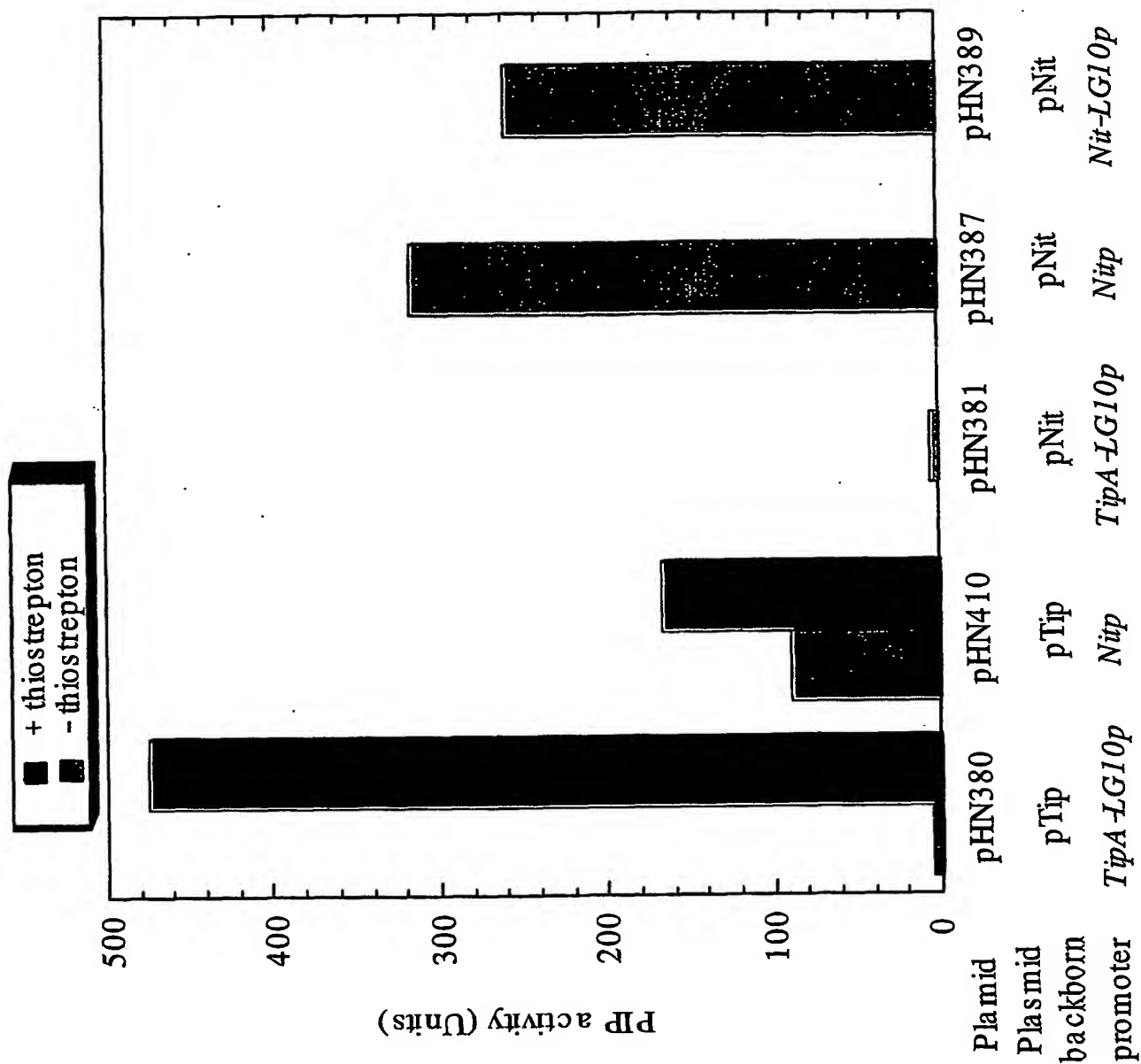
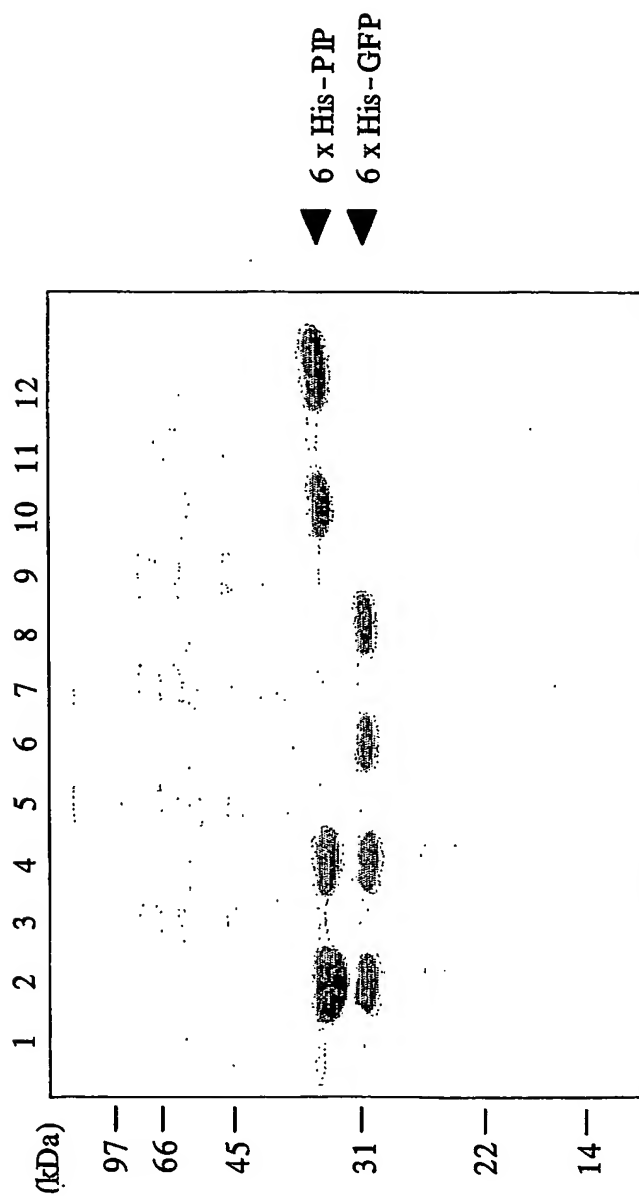


図 21



SEQUENCE LISTING

<110> National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

<120> A method for producing a recombinant protein by using a single or plural vectors in a bacterium belonging to genus Rhodococcus

<130> PH-2110-PCT

<140>

<141>

<150> JP 2003/116280

<151> 2003-04-21

<160> 107

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN1

<400> 1

cagagctcgt caggtggcac ttttc

25

<210> 2

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN2

<400> 2

gttgtacaac tagtcgtgcc agctgcatta

30

<210> 3

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN120

<400> 3

gctgtacacc cgagaagctc ccagcg

26

<210> 4

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN121

<400> 4

cggagctctt gaacgagagt tggccgttg

29

<210> 5

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN122

<400> 5

tcagatctat cgtcacgac tgcgatcacg ttgacgccg

39

<210> 6

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN123

<400> 6

acggatcctc cgctgaaatc tcgccgtgcc t

31

<210> 7

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN130

<400> 7

cttcatatgc ggagctcgac cgcgcggg

28

<210> 8

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN131

<400> 8

atcgagtcgt tcaagggcgt cggc

24

<210> 9

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer NEB1233

<400> 9

agcggataac aatttcacac agg

23

<210> 10

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN10

<400> 10

caccaggatg atccccgac

19

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN11

<400> 11

gacagtgaca tcaccagc

18

<210> 12

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer NEB1224

<400> 12

cgccagggtt ttcccagtca cgac

24

<210> 13

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN40

<400> 13

atgagctact ccgtgggaca ggtg

24

<210> 14

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN41

<400> 14

tgcagatctt ccgttttcgac gtgacggag

29

<210> 15

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN42

<400> 15

cagtctagaa ttgatctcct cgaccg

26

<210> 16

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN43

<400> 16

tgcaagctcc tatgtaaacg

20

<210> 17

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN55

<400> 17

cgccctgctcc acggccgcc

19

<210> 18

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN56

<400> 18

atggaggcac gcagcatg

18

<210> 19

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN57

<400> 19

cgccccctcg gagtcggcg

19

<210> 20

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN58

<400> 20

atggacgccg ccgaggac

18

<210> 21

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN147

<400> 21

cgtgtacata tcgaggcggg ctccca

26

<210> 22

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN39

<400> 22

atccatggcc gctcccttct ctgacgccgt c

31

<210> 23

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN36

<400> 23

accatggatc aggaatgcat ag

22

<210> 24

<211> 59

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN37

<400> 24

ttactagttt attaatgatg atgatgatga tgcaggtggt tcaggatgaa atccgaaag 59

<210> 25

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN6

<400> 25

cgtctagagt cccgctgagg cggcgtagc

29

<210> 26

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN9

<400> 26

ctactagtcg acccaccggc acccgtgag

29

<210> 27

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN141

<400> 27

aatctagagt aacgggctac tccgtttaac

30

<210> 28

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN142

<400> 28

gggtcgacgg tcctcctgtg gagggttct

30

<210> 29

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN145

<400> 29

gcactcgaga tgaaatctaa caatgcgctc atc

33

<210> 30

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN152

<400> 30

agactagtcc tcaacgacag gagcacgac

30

<210> 31

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer T7

<400> 31

gtaatacgac tcactatagg gc

22

<210> 32

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN153

<400> 32

aatccacagg acgggtgtgg

20

<210> 33

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN154

<400> 33

ctctacgccg gacgcatcg

19

<210> 34

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer T3

<400> 34

gcaattaacc ctactaaag gg

22

<210> 35

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN155

<400> 35

acgacgctct cccttatgcg

20

<210> 36

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN156

<400> 36

ccgatgccct tgagagcct

19

<210> 37

<211> 67

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN110

<400> 37

aacca~~t~~ggta tatctccttc tt~~a~~aagtt~~a~~a acaaaattat ttctagacgc cgtccacgct
gcctcct

60

67

<210> 38

<211> 77

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer NNco1

<400> 38

catgggccac catcaccatc accatatggg aattctacgt agcggccgcg gatccaagct 60
tagatctcga ggatgaa 77

<210> 39

<211> 77

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer NNco2

<400> 39

ctagttcatc ctcgagatct aagcttggat ccgcgccgcg tacgtagaat tcccatatgg 60
tgatggtgat ggtggcc 77

<210> 40

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer CNco1

<400> 40

catgggaatt ctacgtagcg gccgcggatc caagcttaga tctcgaggac atcaccatca 60
ccatcactga a 71

<210> 41

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer CNco2

<400> 41

ctagttcagt gatggtgatg gtgatgtcct cgagatctaa gcttggatcc gcggccgcta 60
cgtagaatc c 71

<210> 42

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN159

<400> 42

tccatatgcg ctcccttctc tgacgccgt 29

<210> 43

<211> 80

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer NNde1

<400> 43

tatgggccat caccatcacc atcacgccat gggaattcta cgtacgggcc gcggatccaa 60
gcttagatct cgaggatgaa 80

<210> 44

<211> 82

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer NNde2

<400> 44

ctagttcatc ctcgagatct aagcttggat ccgcggccgc tacgtagaat tcccatggcg 60
tgatggtgat ggtgatggcc ca 82

<210> 45

<211> 71

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer CNde1

<400> 45

tatgggaatt ctacgtagcg gccgcggatc caagcttaga tctcgaggac atcaccatca 60
ccatcactga a 71

<210> 46

<211> 73

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer CNde2

<400> 46

ctagttcagt gatggtgatg gtgatgtcct cgagatctaa gcttggatcc gcggccgcta 60
cgtagaattc cca 73

<210> 47

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN160

<400> 47

aacatatgta tatctccttc ttaaagttaa ac 32

<210> 48

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN343

<400> 48

aaactagttc agtgatggtg atggtgatgc tcgagagatc t

41

<210> 49

<211> 8166

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-NH1

<400> 49

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgct cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgctcg gagcgctcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgga cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgctgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgccctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840

ttccgacctg ttccgaggagg cgtcttccgc ctccggtttcc atcccccata tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtgggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgtttctca cgcttttaggc ttgaccccg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaacct ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccaactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc cggatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggctactgc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgtatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctccgagcac tgtccgaccg ctttgccgc cgcccagtc tgctcgcttc 1560
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgctc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcctcgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgccca 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatgggtg caggccccgt ggccggggga ctgttggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgccg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaatacag gagtcgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaacct 1920
agtcagctcc ttcgggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacagggtgc ggacgcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgca cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcaactggctc gccacacaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcattggcg ccgacgcgt gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttcccca ttatgattct tctcgcttcc ggcggcacgc ggatgccgcg 2280
gttgaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacct caggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggct cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgta cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcgggtc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagccaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcga aaccaaccct tggcagaaca tatccatgc gtcgcccac 2640

tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgtccc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcgggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcgg cctgctcgtg ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgtcgc acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccggg 3120
ccgggacccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctcacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcaccggcg 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcaggcg atcgcccgca accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcaactccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacatc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttcctgtg cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggt attatccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcc 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac 4440

cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttec cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4620
ctggctgggt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtctgtg cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttgagc cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gctcacgggt gccgggtgggt 6000
cgactagttc atcctcgaga tctaagcttg gatccggggc cgctacgtag aattcccata 6060
tggtgatggg gatgggtggc catggccgct cccttctctg acgccgtcca cgctgcctcc 6120
tcacgtgacg tgagggtgaa gcccggaacg tccgcgtgcc acgccgtgag ccgccgcgtg 6180
ccgtcggctc cctcagcccg ggcggccgtg ggagcccgcc tcgatatgta caccgagaa 6240

gctcccagcg tcctcctggg ccgcgatact cgaccaccac gcaagcacac cgcactaacg 6300
attcgggcgg cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc ggcgctcgat tcggccggcg 6360
ctcgattcgg ccggcgctcg attcgggcga gcagaagagt gaacaaccac cgaccacgct 6420
tccgctctgc gcgccgtacc cgacctacct cccgcagctc gaagcagctc ccgggagtac 6480
cgccgtactc acccgctgt gtcaccatc caccgacgca aagcccaacc cgagcacacc 6540
tcttgacca aggtgccgac cgtggctttc cgctcgagg gttccagaag aaatcgaacg 6600
atccagcgcg gcaaggttca aaaagcaggg gttgggtggg aggaggtttt ggggggtgtc 6660
gccgggatac ctgatatggc tttgttttgc gtagtcgaat aattttccat atagcctcgg 6720
cgcgctcggac tcgaatagtt gatgtggcg ggcacagttg ccccatgaaa tccgcaacgg 6780
ggggcggtgt gagcgatcgg caatggcgcg atgcggtgtt gcttcgcac cggccgttcg 6840
cgacgaacaa cctccaacga ggtcagtacc ggatgagccg cgacgacgca ttggcaatgc 6900
ggtacgtcga gcattcaccg cacgcgttgc tcggatctat cgtcatcgac tgcgatcacg 6960
ttgacgccgc gatgcgcgca ttcgagcaac catccgacca tccggcgccg aactgggtcg 7020
cacaatgcc gtccggccgc gcacacatcg gatggtggct cggccccaac cacgtgtgcc 7080
gcaccgacag cgcccgactg acgccactgc gctacgcca ccgcatcgaa accggcctca 7140
agatcagcgt cggcgcgat ttcgcgtatg gcgggcaact gacaaaaac ccgattcacc 7200
ccgattggga gacgatctac ggcccgcca cccgtacac attgcggcag ctggccacca 7260
tccacacacc ccggcagatg ccgcgtcggc ccgatcgggc cgtgggcctg ggccgcaacg 7320
tcaccatgtt cgacgccacc cggcgatggg cataccgca gtggtggcaa caccgaaacg 7380
gaaccggccg cgactgggac catctcgtcc tgcagcactg ccacgccgtc aacaccgagt 7440
tcacgacacc actgccgttc accgaagtac gcgccaccgc gcaatccatc tccaaatgga 7500
tctggcgcaa tttcaccgaa gaacagtacc gagcccgaca agcgcattc ggtcaaaaag 7560
gcggcaaggc aacgacactc gccaaacaag aagccgtccg aaacaatgca agaaagtacg 7620
acgaacatac gatgcgagag gcgattatct gatggcgga gccaaaaatc cgggtgcgccg 7680
aaagatgacg gcagcagcag cagccgaaaa attcggtgcc tccactcgca caatccaacg 7740
cttgtttgtt gagccgcgtg acgattacct cggccgtgcg aaagctcgcc gtgacaaagc 7800
tgtcgagctg cggaagcagg ggttgaagta ccgggaaatc gccgaagcga tggaactctc 7860
gaccgggatc gtccggcgat tactgcacga ccccgagcagg cacggcgaga tttcagcgga 7920
ggatctgtcg gcgtaaccaa gtcagcgggt tgtcgggttc cggccggcgc tcggcactcg 7980
gaccggccgg cggatggtgt tctgcctctg gcgcagcgtc agctaccgcc gaaggcctgt 8040

catcgaccgg cttcgactga agtatgagca acgtcacagc ctgtgattgg atgatccgct 8100
cacgctcgac cgctacctgt tcagctgccg cccgctgggc atgagcaacg gccaaactctc 8160
gttcaa 8166

<210> 50

<211> 8169

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-NH2

<400> 50

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgctg cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaattcgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcgcccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttccggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgga cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtctttctcc ttcccgctgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggccc 840
ttccgacctg ttccgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atccccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttctc gacctcgatt 1020

cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtgggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac ccggttctca cgctttaggc ttgaccccg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccaactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggctactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aattttctatg 1500
cgcacccggt ctcggagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgcctcgttc 1560
gctaacttga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgctc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcatcgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcccta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtg caggccccgt ggccggggga ctggtggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgcgg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaattgag gattcgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaacc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgca cgatgatcgg cctgtcgtt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgt caagccttcg tcaactggctc cgccaccaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcg ccgacgcgt gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttccca ttatgattct tctcgttcc ggcggcatcg ggatgccgc 2280
gttgaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacat caggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggt cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc ccgcggttc gtgcgggtgc atggagccg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagcaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcga aaccaaccct tggcagaaca tatccatcg gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttggtga 2820

atcacacccc accggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcagggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tggttctaccg ggagctgggc ttcccgtcgc acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccgg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctcacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgctacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcacccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atgccccgca accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcgggt ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcaactccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatTTTTct aaatacatc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt ccctTTTTtg cggcattttg ccttcctggt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcagc gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cactttttaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgtgccca 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttcgg 4620

ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggctcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcgagacct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttctg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gctcacgggt gccgggtgggt 6000
cgactagtgc atcctcgaga tctaagcttg gatccgcggc cgctacgtag aattcccatg 6060
gcgtgatggt gatggtgatg gcccatatgc gctcccttct ctgacgccgt ccacgctgcc 6120
tcctcacgtg acgtgaggtg caagcccga cgttccgcgt gccacgccgt gagccgccgc 6180
gtgccgtcgg ctccctcagc ccgggcggcc gtgggagccc gcctcgatat gtacaccga 6240
gaagctccca gcgtcctcct gggccgcgat actcgaccac cacgcacgca caccgcacta 6300
acgattcggc cggcgctcga ttccggccgc gctcgattcg gccggcgctc gattcggccg 6360
gcgctcgatt cggccggcgc tcgattcggc cgagcagaag agtgaacaac caccgaccac 6420

gcttcgctc tgcgcgccgt acccgacct cctcccgag ctggaagcag ctcccgagg 6480
 taccgccgta ctacccgcc tgtgtcacc atccaccgac gcaaagccoa acccgagcac 6540
 acctcttgca ccaaggtgcc gaccgtggct ttccgctcgc agggttccag aagaaatcga 6600
 acgatccagc gcggcaaggt tcaaaaagca ggggttggtg gggaggaggt tttgggggg 6660
 gtcgccggga tacctgatat ggctttgttt tgcgtagtcg aataattttc catatagcct 6720
 cggcgcgtcg gactcgaata gttgatgtgg gcgggcacag ttgccccatg aaatccgcaa 6780
 cggggggcgt gctgagcgat cggcaatggg cggatgcggt gttgcttccg caccggccgt 6840
 tcgcgacgaa caacctcaa cgaggtcagt accggatgag ccgcgacgac gcattggcaa 6900
 tgcggtacgt cgagcattca ccgcacgcgt tgctcggatc tatcgtcatc gactgcgac 6960
 acgttgacgc cgcgatgcgc gcattcgagc aaccatccga ccatccggcg ccgaactggg 7020
 tcgcacaatc gccgtccggc cgcgcacaca tcggatggtg gctcggcccc aaccacgtgt 7080
 gccgcaccga cagcggccga ctgacgccac tgcgctacgc ccaccgcatc gaaaccggcc 7140
 tcaagatcag cgtcggcggc gatttcgct atggcgggca actgacaaa aacccgattc 7200
 accccgattg ggagacgac tacggcccg ccaccccgta cacattgcgg cagctggcca 7260
 ccatccacac accccggcag atgccgcgtc ggcccgatcg ggccgtgggc ctgggccgca 7320
 acgtcaccat gttcgacgcc acccggcgat gggcataccc gcagtgggtg caacaccgaa 7380
 acggaaccgg ccgcgactgg gaccatctcg tcctgcagca ctgccacgcc gtcaacaccg 7440
 agttcacgac accactgccg ttcaccgaag tacgcgccac cgcgcaatcc atctccaaat 7500
 ggatctggcg caatttcacc gaagaacagt accgagcccg acaagcgcat ctcggtcaaa 7560
 aaggcggcaa ggcaacgaca ctgcctaac aagaagccgt ccgaaacaat gcaagaaagt 7620
 acgacgaaca tacgatgcga gaggcgatta tctgatgggc ggagccaaaa atccggtgcg 7680
 ccgaaagatg acggcagcag cagcagccga aaaattcggt gcctccactc gcacaatcca 7740
 acgcttggtt gctgagccgc gtgacgatta cctcggccgt gcgaaagctc gccgtgacaa 7800
 agctgtcgag ctgcggaagc aggggttgaa gtaccgggaa atcgccgaag cgatggaact 7860
 ctcgaccggg atcgtcggcc gattactgca cgacgccgc aggcacggcg agatttcagc 7920
 ggaggatctg tcggcgtaac caagtcagcg ggttgctggg ttccggccgg cgctcggcac 7980
 tcggaccggc cggcgatgg tgttctgcct ctggcgcagc gtcagctacc gccgaaggcc 8040
 tgtcatcgac cggcttcgac tgaagtatga gcaacgtcac agcctgtgat tggatgatcc 8100
 gctcaçgctc gaccgctacc tgttcagctg ccgcccgctg ggcatgagca acggccaact 8160
 ctcgttcaa 8169

<210> 51

<211> 8160

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-CH1

<400> 51

```
gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagccctca tgcacagcat 300
cgcgggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgga cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgctgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctggt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtgggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac ccggttctca cgctttaggc ttgaccccg 1200
```

agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccaactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcaccc tggatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cgg tactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctcgagcac tgtccgaccg ctttgccgc cggccagtcc tgcctgcttc 1560
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcacgtg cggcatcac cggcgccaca ggtgcggtg ctggcgcta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatgc ggctcgccac ttggggctca tgagcgctg 1740
tttcggcggtg ggtatggtg caggccccgt ggccggggga ctgttggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttcttgccg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
ccta atgcag gagtgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaacc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacagggtgc ggacgcgtc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgca cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tctactggtc gccacaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcg cgcgcgcgt gggctacgtc ttgctggcg tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttccca ttatgattct tctcgcttc gccggcatcg ggatgccgc 2280
gttgacaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacct caggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggt cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgcg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagcaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcga aaccaacct tggcagaaca tatccatcg gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgcgttgag gactagaatt gatctcctcg accccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttggtga 2820
atcacacccc accgggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg ccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcggt gcgcacgtg caccactacg acgacatcg cctgctcgta ccgagcgagc 3000

gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
 tgttctaccg ggagctgggc ttcccgctcg acgaggctcg cgccctgctc gacgaccg 3120
 ccgcggaacc gcgcgcgcac ctgcgcgcgc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
 aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
 acctaccccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
 aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
 cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcaccg 3420
 gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
 ccgaggacca ccggcagggc atcgcccgca accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
 cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
 agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
 cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tactcccgg 3720
 gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcgggtg ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
 agtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
 tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 3900
 gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
 atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ccttcctggt ttgctcacc 4020
 cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
 tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
 caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
 ggcaagagca actcggctgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
 cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4320
 taaccatgag tgataaact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
 agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaaac 4440
 cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
 caacaacgtt gcgcaaaact ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
 taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttcgg 4620
 ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
 cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
 aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800

attggttaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
ttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggtttg tttgccgat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagttagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcacgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtctgt cttaccgggt tggactcaag acgatatgta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt ccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttctcg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatccctga ttctgtgat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcagtcag tgagcgagga agcggaagag cgccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gctcacgggt gccgggtgggt 6000
cgactagtgc agtgatgggt atgggtgatgt cctcgagatc taagcttgga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatggc cgctcccttc tctgacgccg tccacgtgc ctctcacgt 6120
gacgtgaggt gcaagcccgg acgttccgcg tgccacgccg tgagccgccg cgtgccgtcg 6180
gctccctcag ccggggcggc cgtgggagcc cgctcgata tgtacaccg agaagctccc 6240
agcgtcctcc tggggcgcg tactcgacca ccacgcacgc acaccgact aacgattcgg 6300
ccggcgctcg attcggccgg cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc ggcgctcgat 6360
tcggccggcg ctcgattcgg ccgagcagaa gagtgaacaa ccaccgacca cgcttccgct 6420
ctgcgcgccg taccgacct acctcccgca gctcgaagca gctcccggga gtaccgccgt 6480
actcaccgc ctgtgtcac catccaccga cgcaaagccc aaccgagca cacctcttgc 6540
accaaggtgc cgaccgtggc tttccgctcg cagggttcca gaagaaatcg aacgatccag 6600

cgcggaagg ttcaaaaagc aggggttggt ggggaggagg ttttgggggg tgctgccggg 6660
atacctgata tggctttgtt ttgcgtagtc gaataatttt ccatatagcc tcggcgcgtc 6720
ggactcgaat agttgatgtg ggcgggcaca gttgccccat gaaatccgca acggggggcg 6780
tgctgagcga tcggcaatgg gcggatgcgg tgttgcttcc gcaccggccg ttcgcgacga 6840
acaacctcca acgaggtcag taccggatga gccgcgacga cgcattggca atgcggtacg 6900
tcgagcattc accgcacgcg ttgctcggtat ctatcgtcat cgactgcgat cacgttgacg 6960
ccgcgatgcg cgcattcgag caaccatccg accatccggc gccgaactgg gtcgcacaat 7020
cgccgtccgg ccgcgcacac atcggatggt ggctcggccc caaccacgtg tgccgcaccg 7080
acagcgcccg actgacgcca ctgcgctacg cccaccgcat cgaaaccggc ctcaagatca 7140
gcgtcggcgg cgatttcgcg tatggcgggc aactgaccaa aaaccgatt caccocgatt 7200
gggagacgat ctacggcccg gccaccccggt acacattgcg gcagctggcc accatccaca 7260
caccocggca gatgccgcgt cggcccgatc gggccgtggg cctgggcccgc aacgtcacca 7320
tgttcgacgc caccggcga tgggcatacc cgcagtgggtg gcaacaccga aacggaaccg 7380
gccgcgactg ggaccatctc gtctgcagc actgccacgc cgtcaacacc gagttcacga 7440
caccactgcc gttcaccgaa gtacgcgcca ccgcgcaatc catctccaaa tggatctggc 7500
gcaatttcac cgaagaacag taccgagccc gacaagcgca tctcggtcaa aaaggcggca 7560
aggcaacgac actcgccaaa caagaagccg tccgaaacaa tgcaagaaag tacgacgaac 7620
atacgatgcg agaggcgatt atctgatggg cggagccaaa aatccggtgc gccgaaagat 7680
gacggcagca gcagcagccg aaaaattcgg tgccctccact cgcacaatcc aacgcttggt 7740
tgctgagccg cgtgacgatt acctcgccg tgcgaaagct cgccgtgaca aagctgtcga 7800
gctgcggaag caggggttga agtaccggga aatcgccgaa gcgatggaac tctcgaccgg 7860
gatcgtcggc cgattactgc acgacgccc caggcacggc gagatttcag cggaggatct 7920
gtcggcgtaa ccaagtcagc gggttgtcgg gttccggccg gcgctcggca ctcggaaccg 7980
ccggcgatg gtgttctgcc tctggcgcag cgtcagctac cgccgaaggc ctgtcatcga 8040
ccggcttcga ctgaagtatg agcaacgtca cagcctgtga ttggatgatc cgctcacgct 8100
cgaccgctac ctgttcagct gccgcccgt gggcatgagc aacggccaac tctcgttcaa 8160

<210> 52

<211> 8160

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-CH2

<400> 52

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagccctca tgcacagcat 300
cgcggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcggaaggc caagacattc ggcacgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgcctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggttggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcgagcgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgttctca cgctttaggc ttgaccccg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccaactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cgggtactgc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440

cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctcgagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtcc tgctcgcttc 1560
gctacttggga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcacgtgg cggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttggggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgcg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaattgcag gagtgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaacct 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgga cgatgatcg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcaactggtc cgccaccaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgtt gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttccca ttatgattct tctcgcttcc ggcggcatcg ggatgccgcg 2280
gttcgagcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacct caggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggt cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgcg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagcaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcga aaccaaccct tggcagaaca tatccatcg gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgctgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg ccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcggt gcgcacgtg caccactacg acgacatcg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgtcg acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccgg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240

acctcacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgacccccgac cagtacgagg 3300
 aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
 cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcacccggc 3420
 gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgcgcactc cgagggggcg atggacgccg 3480
 ccgaggacca ccggcagggc atcgcccga accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
 cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
 agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
 cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcaactccgg 3720
 gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
 acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
 tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacatte aaatatgtat ccgctcatga 3900
 gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
 atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc 4020
 cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
 tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
 caatgatgag cactttttaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
 ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
 cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4320
 taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
 agctaaccgc ttttttgcac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttggggaa 4440
 cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
 caacaacgtt gcgcaaaact ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
 taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttcagg 4620
 ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
 cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
 aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
 attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
 ttttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
 aacgtgagtt ttcgttcac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
 gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040

cggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggtttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagttagcc gtagttaggc caccattca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtctgtg cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgaggggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tateccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgtgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgctgtttgc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagtgc agtgatggtg atggtgatgt cctcgagatc taagcttgga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatatg cgctcccttc tctgacgccg tccacgctgc ctctcacgt 6120
gacgtgaggt gcaagcccgg acgttccgcg tgccacgccg tgagccgccg cgtgccgtcg 6180
gctccctcag cccgggcggc cgtgggagcc cgcctcgata tgtacacccg agaagctccc 6240
agcgtcctcc tgggccgcga tactcgacca ccacgcacgc acaccgcaact aacgattcgg 6300
ccggcgctcg attcggccgg cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc ggcgctcgat 6360
tcggccggcg ctcgattcgg ccgagcagaa gagtgaacaa ccaccgacca cgcttccgct 6420
ctgcgcgccg taccgacct acctcccga gctcgaagca gctcccggga gtaccgccgt 6480
actcaccgc ctgtgtcac catccaccga cgcaaagccc aaccgagca cacctcttgc 6540
accaaggtgc cgaccgtggc tttccgctcg cagggttcca gaagaaatcg aacgatccag 6600
cgccgcaagg ttcaaaaagc aggggttggg ggggaggagg ttttgggggg tgtcgccggg 6660
atacctgata tggctttgtt ttgcgtagtc gaataatctt ccatatagcc tcggcgcgctc 6720
ggactcgaat agttgatgtg ggccgggcaca gttgccccat gaaatccgca acggggggcg 6780
tgctgagcga tcggcaatgg gcggatgcgg tgttgcttcc gcaccggccg ttcgcgacga 6840

acaacctcca acgaggtcag taccggatga gccgcgacga cgcattggca atgcggtaçg 6900
tcgagcattc accgcacgcg ttgctcggat ctatcgtcat cgactgcgat cacgttgacg 6960
ccgcgatgcg cgcattcgag caaccatccg accatccggc gccgaactgg gtcgcacaat 7020
cgccgtccgg ccgcgcacac atcggatggt ggctcggccc caaccacgtg tgccgcaccg 7080
acagcgcccg actgacgcca ctgcgctacg cccaccgcat cgaaaccggc ctcaagatca 7140
gcgtcggcgg cgatttcgcg tatggcgggc aactgaccaa aaacccgatt caccocgatt 7200
gggagacgat ctacggcccg gccaccccggt acacattgcg gcagctggcc accatccaca 7260
caccocggca gatgccgcgt cggcccgatc gggccgtggg cctggggccg aacgtcacca 7320
tgttcgacgc caccggcga tgggcatacc cgcagtgtg gcaacaccga aacggaaccg 7380
gccgcgactg ggaccatctc gtcctgcagc actgccacgc cgtcaacacc gagttcacga 7440
caccactgcc gttcacgaa gtacgcgcca ccgcgcaatc catctccaaa tggatctggc 7500
gcaatttcac cgaagaacag taccgagccc gacaagcgca tctcggtcaa aaaggcggca 7560
aggcaacgac actcgccaaa caagaagccg tccgaaacaa tgcaagaaag tacgacgaac 7620
atacgatgcg agaggcgatt atctgatggg cggagccaaa aatccggtgc gccgaaagat 7680
gacggcagca gcagcagccg aaaaattcgg tgcctccact cgcacaatcc aacgcttggt 7740
tgctgagccg cgtgacgatt acctcggccg tgcgaaagct cgccgtgaca aagctgtcga 7800
gctgcggaag caggggttga agtaccggga aatcgccgaa gcgatggaac tctcgaccgg 7860
gatcgtcggc cgattactgc acgacgcccg caggcacggc gagatttcag cggaggatct 7920
gtcggcgtaa ccaagtcagc gggttgtcgg gttccggccg gcgctcggca ctcggaaccg 7980
cggcggatg gtgttctgcc tctggcgagc cgtcagctac cgccgaaggc ctgtcatcga 8040
ccggcttcga ctgaagtatg agcaacgtca cagcctgtga ttggatgatc cgctcacgct 8100
cgaccgctac ctgttcagct gccgcccgt gggcatgagc aacggccaac tctcgttcaa 8160

<210> 53

<211> 8189

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>-

<223> Description of Artificial Sequence:vector

pTip-LNH1

<400> 53

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttcccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagccccctca tgcacagcat 300
cgcggccggg gtggagtcca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccgccagg ttccggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcgtcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcggac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgctgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtggg 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgttctca cgcttttaggc ttgaccccg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa cactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgtcatcgt catcctcggc accgtcacc tggtatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggctactgc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgtatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctgggagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtcc tgctcgcttc 1560
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcatcgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggtg ctggcgcta 1680

tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttgggag ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgagg cggcgggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaatagcag gagtcgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag cttcaaccc 1920
agtcagctcc ttccgggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacagggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgga cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcaactggtcc cgccacaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgtt gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggtggtatg gccttcccc aattgattct tctcgcttcc ggcggcacgc ggatgcccgc 2280
gttgaggcgc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacct cagggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggtc cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgta cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgcgc ccctatacct 2460
tgtctgcctc ccgcggttgc gtcgcggtgc atggagccgc gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagcaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcgca aaccaaccct tggcagaaca tatccatcg gcctcgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgatg 2820
atcacacccc accggggggg gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg ccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acagggtggc ggcttcgccc 2940
gagtgcagggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgcccacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgtcgc acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccggg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgcgcgc agcacgagct gctgtccgc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctacccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgcccactc cgagggggcg atggacgcgc 3480

ccgaggacca ccggcagggc atcgcccgca accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcggg gtgcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcaactcccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatTTTTtct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttcctgtg cgcccttatt ccctTTTTtg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggg attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacggt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttcagg 4620
ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280

cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgaggggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcggtagg tcaccaaccg gggtagaacg 5880
gcgcgggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcagggtt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gctcacgggt gccggtaggt 6000
cgactagtgc atcctcgaga tctaagcttg gatccgcggc cgctacgtag aattcccata 6060
tggtgatggg gatggtaggc catggtatat ctcttctta aagttaaaca aaattatttc 6120
tagacgccgt ccacgtgcc tcctcacgtg acgtgaggtg caagcccga cgttcgcgt 6180
gccacgccgt gagccgccgc gtgccgtcgg ctccctcagc ccgggcggcc gtgggagccc 6240
gcctcgatat gtacaccga gaagctcca gcgtcctcct gggccgcgat actcgaccac 6300
cacgcacgca caccgacta acgattcggc cggcgctcga ttcggccggc gctcgattcg 6360
gccggcgctc gattcggccg gcgctcgatt cggccggcgc tcgattcggc cgagcagaag 6420
agtgaacaac caccgaccac gcttcgcgc tgcgcgccgt acccgacct cctccgcag 6480
ctcgaagcag ctcccgggag taccgcgta ctcaccgcc tgtgctcacc atccaccgac 6540
gcaaagccca acccgagcac acctcttgca ccaaggtgcc gaccgtggct ttccgctcgc 6600
agggttccag aagaaatcga acgatccagc gcggcaaggt tcaaaaagca ggggttggtg 6660
gggaggaggt tttggggggg gtcgccggga tacctgatat ggctttgttt tgcgtagtcg 6720
aataattttc catatagcct cggcgcgctc gactcgaata gttgatgtgg gcgggcacag 6780
ttgccccatg aaatccgcaa cggggggcgt gctgagcgat cggcaatggg cggatgcggt 6840
gttgcttccg caccggcgt tcgcgacgaa caacctcaa cgaggtcagt accggatgag 6900
ccgcgacgac gcattggcaa tgcggtacgt cgagcattca ccgcacgcgt tgctcggatc 6960
tatcgtcatc gactgcgac acgttgacgc cgcgatgcgc gcattcgagc aaccatccga 7020
ccatccggcg ccgaactggg tcgcacaatc gccgtccggc cgcgcacaca tcggatgggtg 7080

gctcggcccc aaccacgtgt gccgcaccga cagcgcccga ctgacgccac tgcgctacgc 7140
 ccaccgcatac gaaaccggcc tcaagatcag cgtcggcggc gatttcgcgt atggcgggca 7200
 actgacaaa aaccgattc acccgattg ggagacgatac tacggcccgg ccaccccgta 7260
 cacattgcgg cagctggcca ccatccacac acccggcag atgccgcgtc ggcccgatcg 7320
 ggccgtgggc ctgggcccga acgtcaccat gtctgacgcc acccgcgat gggcataccc 7380
 gcagtgggtg caacaccgaa acggaaccgg ccgcgactgg gaccatctcg tcctgcagca 7440
 ctgccacgcc gtcaacaccg agttcacgac accactgccg ttcaccgaag tacgcgccac 7500
 cgcgcaatcc atctccaaat ggatctggcg caatttcacc gaagaacagt accgagcccg 7560
 acaagcgcac ctcggtcaaa aaggcggaac ggcaacgaca ctgcgcaaac aagaagccgt 7620
 ccgaaacaat gcaagaaagt acgacgaaca tacgatgcga gaggcgatta tctgatgggc 7680
 ggagccaaaa atccggtgcg ccgaaagatg acggcagcag cagcagccga aaaattcggg 7740
 gcctccactc gcacaatcca acgcttgttt gctgagccgc gtgacgatta cctcggccgt 7800
 gcgaaagctc gccgtgacaa agctgtcgag ctgcggaagc aggggttgaa gtaccgggaa 7860
 atcgccgaag cgatggaact ctgcaccggg atcgctcgcc gattactgca cgacgcccgc 7920
 aggcacggcg agatttcagc ggaggatctg tcggcgtaac caagtcagcg gggtgtcggg 7980
 ttccggccgg cgctcggcac tcggaccggc cggcggatgg tggtctgcct ctggcgacgc 8040
 gtcagctacc gccgaaggcc tgtcatcgac cggcttcgac tgaagtatga gcaacgtcac 8100
 agcctgtgat tggatgatcc gctcacgctc gaccgctacc tggtcagctg ccgcccgtg 8160
 ggcatgagca acggccaact ctcgttcaa 8189

<210> 54

<211> 8183

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector

pTip-LNH2

<400> 54

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60

cttccccttg cgttggtgat tgccgggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagccccctca tgcacagcat 300
cgcggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgcac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttccggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcgtcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac ccggttctca cgcttttaggc ttgaccccg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggtgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggctactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctccggagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtcc tgctcgcttc 1560
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcatcgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttgggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgccg cggcgggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860

cctaatagcag gagtcgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaaccc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgca cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcaactggctc cgccacaaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcattggcg cgcagcgct gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttcccca ttatgattct tctcgcttcc ggcggcatcg ggatgcccgc 2280
gttgcaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgaccat cagggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggct cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgta cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcattggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagcaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcgca aaccaaccct tggcagaaca tatccatcg ctcggccatc 2640
tccagcagcc gcacgcgcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcgtg 2700
atcgtgctcc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccc 2940
gagtgcagggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgctcg acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccgg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcacccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atgccccga accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660

cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcaactcccg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gtcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatTTTTtct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgccttatt ccctTTTTtg cggcattttg ctttctgtt tttgtcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccg attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4320
taaccatgag tgataacact gggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacggt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4620
ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc ttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggttg tttgccgat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccattca 5160
agaactctgt agcaccgct acatacctcg ctctgctaatt cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460

ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggccgagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cgcccttttt acggttcctg gccttttget ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcggtgttc agtcctcgc accggcacc gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagttc agtgatggtg atggtgatgt cctcgagatc taagcttgga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatggt atatctcctt cttaaagtta aacaaaatta tttctagacg 6120
ccgtccacgc tgcctcctca cgtgacgtga ggtgcaagcc cggacgttcc gcgtgccacg 6180
ccgtgagccg ccgcgtgccg tcggctccct cagcccgggc ggccgtggga gcccgccctg 6240
atatgtacac ccgagaagct ccagcgtcc tcctgggccg cgatactcga ccaccacgca 6300
cgcacaccgc actaacgatt cggccggcgc tcgattcggc cggcgctcga ttcggccggc 6360
gctcgattcg gccggcgctc gattcggccg gcgctcgatt cggccgagca gaagagtga 6420
caaccaccga ccacgttcc gctctgcgag ccgtaccga cctacctcc gcagctcgaa 6480
gcagctcccg ggagtaccgc cgtactcaac cgcctgtgct caccatccac cgacgcaaag 6540
cccaaccga gcacacctct tgcaccaagg tgccgaccgt ggctttccgc tcgcagggtt 6600
ccagaagaaa tcgaacgatc cagcgcgga aggttcaaaa agcaggggtt ggtggggagg 6660
aggttttggg ggggtgtgcc gggatacctg atatggcttt gttttgcgta gtcgaataat 6720
tttccatata gcctcggcgc gtcggactcg aatagttgat gtggcgggc acagttgcc 6780
catgaaatcc gcaacggggg gcgtgctgag cgatcggcaa tggcggatg cgggtgtgct 6840
tccgcaccgg ccgttcgcga cgaacaacct ccaacgaggt cagtaccgga tgagccgcga 6900
cgacgcattg gcaatgcgt acgtcgagca ttcaccgcac gcgttgctcg gatctatcgt 6960
catcgactgc gatcacgtt acgcccgat gcgcgcatc gagcaaccat ccgaccatcc 7020
ggcgccgaac tgggtgcac aatcgccgtc cggccgcgca cacatcgat ggtggctcgg 7080
ccccaaccac gtgtgccga ccgacagcgc ccgactgacg cactgcgct acgcccaccg 7140
catcgaaacc ggcctcaaga tcagcgtcgg cggcgatttc gcgtatggcg ggcaactgac 7200
caaaaaccg attcaccgc attgggagac gatctacggc ccggccacc cgtacacatt 7260

gcggcagctg gccaccatcc acacaccccg gcagatgccg cgtcggcccg atcgggcccgt 7320
 gggcctgggc cgcaacgtca ccatgttcga cgccacccgg cgatgggcat acccgagtg 7380
 gtggcaacac cgaaacggaa ccggccgga ctgggacat ctcgtcctgc agcactgcca 7440
 cgccgtcaac accgagttca cgacaccact gccgttcacc gaagtacgcg ccaccgcgca 7500
 atccatctcc aaatggatct ggcgcaattt caccgaagaa cagtaccgag cccgacaagc 7560
 gcatctcggc caaaaaggcg gcaaggcaac gacactcgcc aaacaagaag ccgtccgaaa 7620
 caatgcaaga agtacgacg aacatacgat gcgagaggcg attatctgat gggcggagcc 7680
 aaaaatccgg tgcgccgaaa gatgacggca gcagcagcag ccgaaaaatt cgggtgcctcc 7740
 actcgcacaa tccaacgctt gtttgctgag ccgcgtgacg attacctcg ccgtgcgaaa 7800
 gctcgcctg acaaagctgt cgagctgcgg aagcaggggt tgaagtaccg ggaaatcgcc 7860
 gaagcgatgg aactctcgac cgggatcgtc ggccgattac tgcacgacgc ccgcaggcac 7920
 ggcgagattt cagcggagga tctgtcggcg taaccaagtc agcgggttgt cgggttccgg 7980
 ccggcgctcg gcactcggac cggccggcgg atgggtgttct gcctctggcg cagcgtcagc 8040
 taccgccgaa ggcctgtcat cgaccggctt cgactgaagt atgagcaacg tcacagcctg 8100
 tgattggatg atccgctcac gctcgaccgc tacctgttca gctgccgccc gctgggcatg 8160
 agcaacggcc aactctcggtt caa 8183

<210> 55

<211> 8123

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector

pTip-LCH1

<400> 55

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
 cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtagggtg 120
 tcacacccca ggaatcgct cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180

ggacaccatc gcaaattccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagccccctca tgcacagcat 300
cgcgggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtcgc ctcacgact cctcgatcgt 420
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 480
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcctcg gagcgtcggg 540
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 600
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgcctt 660
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 720
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 780
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 840
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 900
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 960
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1020
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1080
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgttctca cgctttaggc ttgaccccg 1140
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaacct ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1200
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccaactccaca ggaggaccgt 1260
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggatgctgt 1320
aggcataggc ttggttatgc cggctactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1380
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1440
cgcacccgtt ctcgagacac tgtccgaccg ctttggcgc cgcccagtc tgctcgcttc 1500
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1560
ctacgccgga cgcacgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcta 1620
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1680
tttcggcgtg ggtatggtag caggccccgt ggccggggga ctgttgggcg ccatctcctt 1740
gcatgcacca ttccttgagg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1800
cctaatacag gagtcgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaacct 1860
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1920
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 1980

ccgctttcgc tggagcgcga cgatgatcgg cctgtcgcctt gcggtattcg gaatcttgca 2040
cgccctcgct caagccttcg tcaactgtcc cgccacaaaa cgtttcggcg agaagcaggc 2100
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgct gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2160
aggctggatg gccttcccca ttatgattct tctcgcttcc ggcggcatcg ggatgcccgc 2220
gttgaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacat caggacagc ttcaaggatc 2280
gctcgcggct cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2340
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgccg ccctatacct 2400
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctcga cctgaatgga 2460
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagccaa tcaattcttg 2520
cggagaactg tgaatgcgca aaccaaccct tggcagaaca tatccatcgc gtccgccatc 2580
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2640
atcgtgctcc tgcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2700
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgta 2760
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2820
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acagggtggc ggcttcgccg 2880
gagtgcgggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcgg cctgctcgtc ccgagcgagc 2940
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3000
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgctcg acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccgg 3060
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3120
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3180
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3240
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3300
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcaccggc 3360
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3420
ccgaggacca ccggcagggc atgcgccgca accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3480
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3540
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3600
cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcaactcccg 3660
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3720
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3780

tgcgcggaac ccctatttgt ttatTTTTct aaatacatto aaatatgtat ccgctcatga 3840
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3900
atttcctgtg cgccttatt ccctTTTTtg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc 3960
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4020
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4080
caatgatgag cactttttaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4140
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4200
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4260
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4320
agctaaccgc ttttttgcaac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaaac 4380
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4440
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4500
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4560
ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4620
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4680
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4740
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4800
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4860
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4920
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 4980
cgggtggttg tttgccgat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5040
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca 5100
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5160
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5220
cgcagcggtc gggctgaacg ggggggttctg gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct 5280
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5340
gaaaggcgga caggatatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5400
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5460
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5520
cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5580

tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5640
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5700
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttgccga ttcatatg cagctggcac gactagagtc 5760
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5820
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcagggtt 5880
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcaccg gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 5940
cgactagtgc agtgatggtg atggtgatgt cctcgagatc taagcttgga tccgcggccg 6000
ctacgtagaa ttcccatggt atatctcctt cttaaagtta aacaaaatta tttctagacg 6060
ccgtccacgc tgctcctca cgtgacgtga ggtgcaagcc cggacgttcc gcgtgccacg 6120
ccgtgagccg ccgctgcccgc tcggctccct cagcccgggc ggccgtggga gcccgccctcg 6180
atatgtacac ccgagaagct ccagcgtcc tcctgggccc cgatactcga ccaccacgca 6240
cgcacaccgc actaacgatt cggccggcgc tcgattcggc cggcgctcga ttccggccggc 6300
gctcgattcg gccggcgctc gattcggccg gcgctcgatt cggccgagca gaagagtga 6360
caaccaccga ccacgcttcc gctctgcgcg ccgtaccgca cctacctccc gcagctcgaa 6420
gcagctcccg ggagtaccgc cgtactcacc cgcctgtgct caccatccac cgacgcaaag 6480
cccaaccgga gcacacctct tgcaccaagg tgccgaccgt ggctttccgc tcgcagggtt 6540
ccagaagaaa tcgaacgatc cagcgcggca aggttcaaaa agcaggggtt ggtggggagg 6600
aggttttggg ggggtgtcgcc gggatacctg atatggcttt gttttgcgta gtcgaataat 6660
tttccatata gcctcggcgc gtcggactcg aatagttgat gtggcggggc acagttgccc 6720
catgaaatcc gcaacggggg gcgtgctgag cgatcggcaa tggcgggatg cgggtgtgct 6780
tccgcaccgg ccgttcgcga cgaacaacct ccaacgaggt cagtaccgga tgagccgcga 6840
cgacgcattg gcaatgcggt acgtcgagca ttcaccgcac gcgttgctcg gatctatcgt 6900
catcgactgc gatcacgttg acgcccgat gcgcgcattc gagcaaccat ccgaccatcc 6960
ggcgccgaac tgggtcgcac aatcgccgct cggccgcgca cacatcggtt ggtggctcgg 7020
ccccaaccac gtgtgccgca ccgacagcgc ccgactgacg ccaactgcgt acgcccaccg 7080
catcgaaacc ggctcaaga tcagcgtcgg cggcgatttc gcgtatggcg ggcaactgac 7140
caaaaaccgg attcaccggc attgggagac gatctacggc ccggccaccc cgtacacatt 7200
gcggcagctg gccaccatcc acacaccccg gcagatgccg cgtcggcccg atcgggcccgt 7260
gggcctgggc cgcaacgtca ccatgttcga cgccaccgg cgatgggcat acccgagtg 7320
gtggcaacac cgaaacggaa ccggccgcga ctgggacat ctcgtcctgc agcactgcca 7380

cgccgtcaac accgagttca cgacaccact gccgttcacc gaagtacgcg ccaccgcgca 7440
 atccatctcc aaatggatct ggcgcaatth caccgaagaa cagtaccgag cccgacaagc 7500
 gcatctcggt caaaaaggcg gcaaggcaac gacactcgcc aaacaagaag ccgtccgaaa 7560
 caatgcaaga aagtacgacg aacatacgat gcgagaggcg attatctgat gggcggagcc 7620
 aaaaatccgg tgcgccgaaa gatgacggca gcagcagcag ccgaaaaatt cgggtgcctcc 7680
 actcgcacaa tccaacgctt gtttgctgag ccgcgtgacg attacctcgg ccgtgcgaaa 7740
 gctcgccgtg acaaagctgt cgagctgcgg aagcaggggt tgaagtaccg ggaaatcgcc 7800
 gaagcgatgg aactctcgac cgggatcgtc ggccgattac tgcaacgacgc ccgcaggcac 7860
 ggcgagatth cagcggagga tctgtcggcg taaccaagtc agcgggttgt cgggttcggg 7920
 ccggcgctcg gcactcggac cggccggcgg atggtgttct gcctctggcg cagcgtcagc 7980
 taccgccgaa ggcctgtcat cgaccggctt cgactgaagt atgagcaacg tcacagcctg 8040
 tgattggatg atccgctcac gctcgaccgc tacctgttca gctgccgcc cgtgggcatg 8100
 agcaacggcc aactctcgth caa 8123

<210> 56

<211> 8184

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector

pTip-LCH2

<400> 56

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
 cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtagggtg 120
 tcacacccca ggaatcgct cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagth 180
 ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
 gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
 cgcggtccggg gtggagthca tcgaggtcta cggcagcgc agcagtcctt ttccatctga 360
 gttgctggat ctgtcggggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420

caaccagttg ttcaaggggg agcggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcgtcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgga cggcgctctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgccctt 720
cattcggggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cagcagagga tcgacaggaa 960
tctcgcgggc aaccgataag cgcctctgtt cctcggaacg tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgttctca cgctttaggc ttgaccccgg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccaactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc cttgatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggctactgc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctcgagacac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgctcgcttc 1560
gctacttga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgctc tgtggattct 1620
ctacgccga cgcacgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgccg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaattgcag gagtcgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaacc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgga cgatgatcg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcaactggctc cgccaccaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcg ccgacgcgct gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220

aggctggatg gccttcccca ttatgattct tctcgcttcc ggcggcatcg ggatgcccgc 2280
gttgcaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgaccat cagggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggtc cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcattggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctcga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagccaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcgca aaccaaccct tggcagaaca tatccatcgc gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcgatg 2700
atcgtgctcc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg cccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcaggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgtcgc acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccggg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgcgcgc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcgggc gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcaccgggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atcgcccgca accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcgggt ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcaactcccg 3720
gccagacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatTTTTTct aaatacatc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt ccctTTTTTg cggcattttg ccttctgtt tttgctcacc 4020

cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggtttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgtttttc 4140
caatgatgag cactttttaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgccca 4320
taacatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttggggaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacggt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttcagg 4620
ctggctggtt tattgctgat aaatctggag cgggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcacgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt ctaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggcccttttg tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820

ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgctgtttgc agtccctcgc accggcaccg gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagttc agtgatggtg atggatgatgt cctcgagatc taagcttgga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatatg tataatctcct tcttaaagt aaacaaaatt atttctagac 6120
gccgtccacg ctgcctcctc acgtgacgtg aggtgcaagc ccggacgttc cgctgcccac 6180
gccgtgagcc gccgcgtgcc gtcggctccc tcagcccggg cggccgtggg agcccgcctc 6240
gatatgtaca ccgagaagc tcccagcgtc ctctggggc gcgatactcg accaccacgc 6300
acgcacaccg cactaacgat tcggccggcg ctcgattcgg ccggcgctcg attcggccgg 6360
cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc ggcgctcgat tcggccgagc agaagagtga 6420
acaaccaccg accacgcttc cgctctgcgc gccgtaccg acctacctc cgcagctcga 6480
agcagctccc gggagtaccg ccgtactcac ccgcctgtgc tcaccatcca ccgacgcaa 6540
gcccacccg agcacacctc ttgcaccaag gtgccgaccg tggctttccg ctgcagggt 6600
tccagaagaa atcgaacgat ccagcgcggc aaggttcaaa aagcaggggt tgggtgggag 6660
gaggttttgg ggggtgtcgc cgggatacct gatatggctt tgttttgcgt agtcgaataa 6720
ttttccatat agcctcggcg cgtcggactc gaatagttga tgtgggcggg cacagttgcc 6780
ccatgaaatc cgcaacgggg ggctgtctga gcgatcggca atgggcggat gcggtgttgc 6840
ttccgcaccg gccgttcgcg acgaacaacc tccaacgagg tcagtaccg atgagccgcg 6900
acgacgcatt ggcaatgcgg tacgtcgagc attcaccgca cgcgttgctc ggatctatcg 6960
tcatcgactg cgatcacgtt gacgccgcga tgcgcgcatt cgagcaacca tccgaccatc 7020
cggcgccgaa ctgggtcgca caatcgccgt ccggccgcgc acacatcgga tgggtggctcg 7080
gccccaccaa cgtgtgccgc accgacagcg cccgactgac gccactgcgc tacgcccacc 7140
gcatcgaaac cggcctcaag atcagcgctc gcggcgattt cgcgtatggc gggcaactga 7200
ccaaaaacc gattcacccc gattgggaga cgatctacgg ccggccacc ccgtacacat 7260
tgccgcagct ggccaccatc cacacacccc ggcagatgcc gcgtcggccc gatcgggccg 7320
tgggcctggg ccgcaacgtc accatgttcg acgccaccg gcgatgggca taccgcagt 7380
gggtggcaaca ccgaaacgga accggccgcg actgggacca tctcgtcctg cagcactgcc 7440
acgccgtcaa caccgagttc acgacaccac tgccgttcac cgaagtacgc gccaccgcgc 7500
aatccatctc caaatggatc tggcgcaatt tcaccgaaga acagtaccga gcccgacaag 7560
cgcatctcgg tcaaaaaggc ggcaaggcaa cgacactcgc caaacaagaa gccgtccgaa 7620

acaatgcaag aaagtacgac gaacatacga tgcgagaggc gattatctga tgggcggagc 7680
 caaaaatccg gtgcgccgaa agatgacggc agcagcagca gccgaaaaat tcggtgcctc 7740
 cactcgcaaca atccaacgct tgtttgctga gccgcgtgac gattacctcg gccgtgcgaa 7800
 agctcgccgt gacaaagctg tcgagctgcg gaagcagggg ttgaagtacc gggaaatcgc 7860
 cgaagcgatg gaactctcga ccgggatcgt cggccgatta ctgcacgacg cccgcaggca 7920
 cggcgagatt tcagcggagg atctgtcggc gtaaccaagt cagcgggttg tcgggttccg 7980
 gccggcgctc ggcaactcga ccggccggcg gatgggtgtc tgcctctggc gcagcgtcag 8040
 ctaccgccga aggcctgtca tcgaccggct tcgactgaag tatgagcaac gtcacagcct 8100
 gtgattggat gatccgctca cgctcgaccg ctacctgttc agctgccgcc cgctgggcat 8160
 gagcaacggc caactctcgt tcaa 8184

<210> 57

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN389

<400> 57

gttgtacaag catggggact cgccgc

26

<210> 58

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN390

<400> 58

gtagatctcc tccgactgca tcaacggcg

29

<210> 59

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN391

<400> 59

accgttaacc atcagtactt ggcggtgtg

29

<210> 60

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN321

<400> 60

gaagctgacc aagttctc

18

<210> 61

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN335

<400> 61

gcccagggca catcggaatt catg

24

<210> 62

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN336

<400> 62

accgacactg acgccgatga acga

24

<210> 63

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN349

<400> 63

cagcatgaac gtgatgagga atgtcagaag

30

<210> 64

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN351

<400> 64

ttcgaggtct tgctggtcac acgcatcgtg

30

<210> 65

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN361

<400> 65

aagagctctc tagacgcac cgaaacctcc accc

34

<210> 66

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN362

<400> 66

acaacatgaa ctcggatgtg c

21

<210> 67

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN363

<400> 67

ccggactcat accggacatg g

21

<210> 68

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN364

<400> 68

aaactagtca tggtcgctgt agtggaactc ac

32

<210> 69

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN368

<400> 69

aacgttgctt ttatgttgga tc

22

<210> 70

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN373

<400> 70

aatgtacaag ttaacgaccg cgcgggtccc ggacg

35

<210> 71

<211> 95

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer MCS-1a

<400> 71

catggggccac catcaccatc accatatggg aattctacgt agcggccgcg gatccaagct 60

tagatctctc gagcatcacc atcaccatca ctgaa

95

<210> 72

<211> 95

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer MCS-1b

<400> 72

ctagttcagt gatggtgatg gtgatgctcg agagatctaa gcttggatcc gcggccgcta 60
cgtagaattc ccatatggtg atggtgatgg tggcc 95

<210> 73

<211> 98

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer MCS-2a

<400> 73

tatgggccat caccatcacc atcacgccat gggaattcta cgtagcggcc gcggatccaa 60
gcttagatct ctcgagcatc accatcacca tcactgaa 98

<210> 74

<211> 100

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer MCS-2b

<400> 74

ctagttcagt gatggtgatg gtgatgctcg agagatctaa gcttggatcc gcggccgcta 60
cgtagaattc ccatggcgtg atggtgatgg tgatggccca 100

<210> 75

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN217

<400> 75

tgacgcgctc cattatacct cctcacgtg

29

<210> 76

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN218

<400> 76

gagaagggag cggccatggc

20

<210> 77

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN395

<400> 77

tttgtaaact agagtaacgg gctactccg

29

<210>-78

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN396

<400> 78

aaggtacctc aacgacagga gcacgac

28

<210> 79

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN397

<400> 79

actgttaacg catccgaaac ctccacccca ctc

33

<210> 80

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN398

<400> 80

ttgttacctc gctgtagtgg aactcaccga gcac

34

<210> 81

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN147

<400> 81

cgtgtacata tcgaggcggg ctccca

26

<210> 82

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN376

<400> 82

tttctagacg ccgtccatta tacctcctca cgtg

34

<210> 83

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN388

<400> 83

aaagttaacg agagttggcc gttgctc

27

<210> 84

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN120

<400> 84

gctgtacacc cgagaagctc ccagcg

26

<210> 85

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN160

<400> 85

aacatatgta tatctccttc ttaaagttaa ac

32

<210> 86

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN337

<400> 86

aaccatggct agcaaaggag aagaact

27

<210> 87

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN338

<400> 87

aagtgttggc caaggaacag gtag

24

<210> 88

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN339

<400> 88

gtcactactt tctcttatgg

20

<210> 89

<211> 55

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer sHN340

<400> 89

ttagatcttt agtgatggtg atggtgatgt ttgtagagct catccatgcc atgtg 55

<210> 90

<211> 5987

<212> DNA

<213> Rhodococcus erythropolis

<220>

<223> endogenous plasmid pRE8424

<400> 90

gaattcgcgt tgaagcccgg cctctcgtag ctccattgcg acagtcgtgg agtcgtgcgc 60
gttttgaatg gtctgccagg agtgcgacag atccacagat gcctgcttga tgacctgcat 120
ctttcgttcg gtttctttgc gttgaatcat cgcgcgaaacc tctttctcgt ccatacggac 180
agcttattga gtgatcaacc acaaaaagtg tgcagtcggt gacggtttgt gcagcaactg 240
gacactacgc gatattatgt gtacggtttg aagtgtagat gaacagggtg tgctgaatat 300
ggacacttaa gtcataagct gtatcggact cgatcgaagg aactcgcag aatgttcagc 360
tcggaacgtc cctccccgtc gcaactaccg ctgatcagtt cccggtgttc gtggccggta 420
tggaacgacc gatcaagccg gtgcaggaca agctcactcc cgatgggcgt gtgaagtatt 480
cgactggtgc actgctccga gttgcacgca aagatggaac tgttgcgacg gataagacag 540
catccgtgca cgtcatcaac ccgccgaatg agccgttcag cttcggcacg atctaccgag 600
cagaaggcct tgtctgggtg cagccctaca tgacgggaat ggatcgtctc gactgtcca 660
tcacggtcga gaacctggtt ccaatgcctg cggcggccgt ctccgcacct gctcgtgaaga 720
gcgcggacgc atgacaaagc tggtttcacg aatcgcgata ccggttggtg ccttgctagt 780
cggactgatt gttgggtctga atattgttgg cacacaagag attaagcttt ccagcggaat 840

gcaagagcgt cgggactcat gggctgaacg aacggtgacc tgggtgcagat ctcctcttcc 900
gacaggttct gttccatctg tcagtgcacg cagagagata ccgggatatg tccgagtgag 960
tccggaattg agcgccgatg ggatccagtg gactaacccc gatggacagg tcatcacgtc 1020
gccgtactcg aagaccagta cctgcgggtga tgttccagtt cccgaagggtt ggcgcgcagt 1080
ctatttgacc gtaaacagcc ctgtcccgggt ctacaacgga acggaggctg agactgtccc 1140
agaaacattg acgagcgagc gagtgc aaac caatctccag cttggaacct ccggatgcgc 1200
tcttgtgccg gtcgagtcgt ggttgtggaa cgtggatgag caggctcagg tagatagtcc 1260
gaatgtcgtt gtggagtggc cccgatgagc aattacgaag ccgttcggcg cggtgaccag 1320
gtacgaaggc gtacaacctg gcaaatcatg cgaggaaagc tcaaggcaaa aattgccgat 1380
tacccgattc tgtcctcgac gtttctgttg cttctcgtgc tgtacatctt cgacgctgag 1440
atgtggctct tggccagtgt gctgctggtg tgcgttgtgg caatggtcta cctgagagac 1500
cgaacgaagg ctccggcgcg caaacgtcgt acagctcgat ggtggcgagg aactccggaa 1560
gttgcagggtg ctgcggccaa tctcggcttg atcaattcct ctggacagcc tcctctcatt 1620
cggagttata aattttcgga cgacggattg actcgatcag tcgctttcga ccttcgcaca 1680
ggcatcactg gggaagacat gacatcgaaa acggtcaaaa tagctgatgc tttcgggtgct 1740
ctacgtgccg gtttcaccaa agtagagccg cgcagggttg agctacttct gatcgacgca 1800
gacactatct ctcaagcacg agatgcagca tggctcagtg acgtcgagga ctcacggcc 1860
ggcacattga aggaagaggc cggcggcata cttggggaca atcggccttg gtgggagcaa 1920
gaaaaggatc ttccgttcga caaaagcacg gacgcctgat ggatcaaaca gacacgatcc 1980
cgattgcgat tggatggaac gaactagccc aacctgtcct ggtcgatata gccaaagatg 2040
ctgctcactg gctcattcaa ggcaaaaccc gttccggaaa atctcaatgc acctacaacc 2100
tgctcgaca ggctggatcg aatcccgtg tgcgtgtcgt cggagtcgat ccacttccg 2160
tcttactagc cccattcgtc caccgaagac ccgctgaacc gaacatcgag ctcggactga 2220
acgattttga caaagtcctc cgagtcctcc agttcgtcaa agcagaatcc gaccgacgaa 2280
ttgagtgttt ctgggatcga cgcatagaca aaatttcttt gttctcgcca gcactacctc 2340
tcactctgct tgtactggaa gaatttcccg gaatcatcga ggcgcacag gatttcgatg 2400
caaccaacgg tctgaaacca gcagatagat acgcaccccg catcacatcg cttgttcgac 2460
agattgctgc tcagtcggcc aaagcaggca tcagaatggt gctcttggct caacgtgcgg 2520
aagcttccat cgtgggcgga aacgctcgtc cgaatttcgc ggtgaaaatg actctccgcg 2580
tagacgaacc tgaatctgtc aaaatgctgc accccaacgc aacacctgaa gagtgcgcac 2640

tggctgaagg attcggttcct ggacaaggct tcttcgacca acccggaacta cggcgccaaa 2700
tgatccgaac ggttcgcgta ggtgagtact cgacctacgc gagttacgtc gaaaacgcag 2760
acctcgcgta tgaagccgca ctgaacatcg accgagcaca acgaatgaca atcgccctcgg 2820
aatacccaca tcttggcgac ataggctgac aaccgaacac acaggaggac ataccttgat 2880
cggctacccg acagacgcaa tcccggtaaa cacctatatt cgacagcaat ttgagaagggt 2940
tgcacatgag gcaggagaaa aacttgcttc acgccgaaac ctgcccacgg aacgagtcgt 3000
aacgactgca ctccggatca aatcaggctg gccgaatgat catctcgtaa taactgaaat 3060
actcagggcc agagtagggt tggaagggtca agctgtcgtt gacgaacttc gcggcatgca 3120
gatcaccgat gacgaccttg gtgcactagt cgggccacga tgggtcagtt cgatgaccgt 3180
gttcgcaatg tctgagctgc ttctaggcga tgaactcgga aagctcaacg atttacgcgg 3240
tgacgattgg aaacgtgcta gtgactcagc tgctgaagtt ggacgatcac tgggccttaa 3300
atacgacatt tcggacagcg agggagccga acgagattgg tgcgctgctc gaggggcggc 3360
atgggctgtc gcaatgcatg aacacctga gggacgcgat ttcgaaactc tgactgcacc 3420
gtggatcagt cttgtccgac cgaagttcgt tcaactcttc atggacaatg ctgatcgacc 3480
gtcatttggt gccaggtct acgacgagct atgcagccat tctggaggtc atgcaattct 3540
gagtgcagca gatcagaggg ttgatgcgtg aagcacgaag ctacggtatt catccttcgt 3600
ctagctgtcg gcatttacga tcatcgcggt cctgatctgt ggggtggaca tgatgtctac 3660
ggttggtatt acgctgggtga acgcgctgaa tcgtctgaaa ttcttgctgc gatgtgctgc 3720
tattacaccc ccgactacgc ccgtgaagcc ggattcgaca ttgaagcact ggggtgaatac 3780
cggggctctgt tcgatgcact ggtgaagaca agcagaaccc cggaagagaa ggctggcggt 3840
gtcgaagcat ggggactcgc cgcggactag cggcttcccg acacgccgta ctgaccagca 3900
gatcagcgat aaacgctggt tctgctgggt aagtggataa aaaccaaata atcgatgaac 3960
ctcgaagtgg agtatccgag ctgaactagc tggatttact ccgaaaatac gagcggcgac 4020
gaagggtggt ggaccaccct gccgccgct tcgaggctcc tacttgacta ggaccccgct 4080
cgttatgacc agcgtaagt ctgaacacct ttccggcaaa gaccggcccc ctgtcctcgt 4140
gtcgtccgat aagcgcggca tccggcacga acttcgaccc aaacttcaac aaatcaccac 4200
gtcagaaact tttaatgcgt gcggccggcc gatttcgggc gtgaacggtg tgaccatcgt 4260
caacggtccc aaagggtccg gatttggagg ccttcgctcc tgcggaaagg gctggatctg 4320
cccctgctgt gcgggaaaag tcggcgacac tcgagcagac gaaatttctc aagttgttgc 4380
tcatcaactc gggactggat ctgttgcgat ggtgaccatg accatgcgcc ataccgctgg 4440

gcagcgtttg catgatttgt ggactggact ttcggcagcc tggaaagctg cgaccaatgg 4500
 ccgccgatgg cgtaccgaac gtgaaatgta cggctgcgac ggatacgtac gagctgttga 4560
 aatcactcac ggaaaaaacg gttggcacgt tcacgtccac gctctactca tgttcagcgg 4620
 tgacgtgagt gagaacatcc tcgaatcctt ctcggatgcg atgttcgata ggtggacctc 4680
 caaactcgtg tctctgggat ttgctgcgcc actacgtaat tcaggtggac tcgacgtaag 4740
 aaagattggg ggagaagctg accaagttct cgctgcatac ctgacgaaaa ttgcatccgg 4800
 ggtcggcatg gaagtcggca gtggcgacgg aaaaagtggg cggcacggca accgtgcacc 4860
 ttgggaaatc gccgttgatg cagtcggagg ggatccacaa gcgttggaac tctggcgcg 4920
 gtttgagtgc ggttcgatgg gacgccgagc aatcgcatgg tctcgtggac tgcgcgccc 4980
 agctggtctt ggcgtagaac tcacggatgc tcagattgtc gaacaggaag aatctgcccc 5040
 ggtcatgggt gcgatcattc cggctcggtc ctggatgatg attcggaact gtgcgcctta 5100
 cgttttcgga gagatccttg gactcgtgga agcgggcgcg acctgggaaa accttcgtga 5160
 ccacttgcat tatcgattgc ctgcagcgga tgtgcggcct ccgataatat cgattcgtaa 5220
 gtgaaatgtc ttggtgtgca acaactttca ctcgtatgaa ccacacttga gggcatcccc 5280
 ccgatacttg ccgctttgaa gctgggtgtc tctctgtcag ggctgcgata gcaccgcgta 5340
 gcggccttggc cttgacagag agacggcctg tttcatgggt ggtctcgggg ggctgaccgg 5400
 gcagatagaa aaaggccggc cgatttggct gccgactatt tttgcaggta aaccatctc 5460
 atgagcatca atgaacgtcc cgttggtatc gcagcgaatg cagcttcggt agacgtcgat 5520
 ggcggttgta tgggtgtgta tctctcgtt tatgggcaag aatcacgct agatcgagat 5580
 gatgcgttcc tactcctcga tcgacttcag gacgcgttgc gacctcaagc caactaagaa 5640
 ccctccagat ggtctaaacg aggcgcaaac tcgctcctgg gcctgcgggc ggagcaccga 5700
 agcgcgagcg aagcggagcg cgtaggtggg ggagcctgcg ggcagcggcg gcggagccgc 5760
 cgccttggtg ataggtgatc atcggggcca tagcaggatc gaggatgttt ttacgatgac 5820
 tcatgctcac cacgccaagt actgatggc gacgggtgaaa catctgcaac ggtggcaacg 5880
 gttcggctgc tgacgtcaag ctcgtcaacg agaaaacgag aatggattt gcgcagctca 5940
 gaggcagttc ccactactga tgtgatgtct gccagagcct gtagcca 5987

<210> 91

<211> 8207

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-QT1

<400> 91

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgct cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaattcgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcgggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcgtcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgga cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgccctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaaactcggg gacaatccgg atcggtggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac ccggttctca cgcttttaggc ttgaccccgg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccaactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cgggtactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440

cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgctatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgaccccggtt ctcgagacac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgctcgcttc 1560
gctacttggga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccggtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcacgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcccta 1680
tatcgccgac atcacgatg gggaagatcg ggctcgccac ttggggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcggtg ggtatgggtg caggccccgt ggccggggga ctgttgggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgccg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaattgcag gagtcgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaaccc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgcg cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcaactggctc cgccaccaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgct gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttcccc ttatgattct tctcgcttcc ggcggcacgc ggatgccgcg 2280
gttcgagggc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacct caggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggtt cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgta cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgcg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctcga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagccaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcgca aaccaaccct tggcagaaca tatccatcgc gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgctgctc tgctgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg ccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actcgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcggt gcgcacgtg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgcccacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgctcg acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccgg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgccgc agcacgagct gctgtccgc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240

acctcacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcacccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atcgcccgca accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcaactccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttcctgtg cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtggggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cactttttaa gttctgctat gtggcgcggt attatccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttcgg 4620
ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttcac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040

cggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagttagacc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg gggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagtgc agtgatggtg atggtgatgc tcgagagatc taagcttgga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatatg gtgatggtga tgggtggcca tggatatct ccttcttaa 6120
gttaaacaaa attatttcta gacgccgtcc acgctgcctc ctcacgtgac gtgaggtgca 6180
agcccgagc ttccgcgtgc cagccgtga gccgccgct gccgtcggct ccctcagccc 6240
gggcggccgt gggagccgc ctcgatatgt acaccgaga agctcccagc gtcctcctgg 6300
gccgcgatac tcgaccacca cgcacgcaca ccgcactaac gattcggccg gcgctcgatt 6360
cggccggcgc tcgattcggc cggcgctcga ttcggccggc gctcgattcg gccggcgctc 6420
gattcggccg agcagaagag tgaacaacca ccgaccagc ttcgctctg cgcgccgtac 6480
ccgacctacc tccgcagct cgaagcagct cccgggagta ccgccgtact caccgcctg 6540
tgctcaccat ccaccgagc aaagcccaac ccgagcacac ctcttgacc aaggtgccga 6600
ccgtggcttt ccgctcgcag ggttcagaa gaaatcgaac gatccagcgc ggcaaggttc 6660
aaaaagcagg ggttggtggg gaggaggttt tggggggtgt cgcgggata cctgatatgg 6720
ctttgttttg cgtagtcgaa taattttcca tatagcctcg gcgcgtcgga ctggaatagt 6780
tgatgtgggc gggcacagtt gcccatgaa atccgcaacg gggggcgtgc tgagcgatcg 6840

gcaatgggcg gatgcggtgt tgcttccgca ccggccgttc gcgacgaaca acctccaacg 6900
 aggtcagtac cggatgagcc gcgacgacgc attggcaatg cggtagctcg agcattcacc 6960
 gcacgcgttg ctcgatcta tctcatcga ctgcgatcac gttgacgccg cgatgcgcgc 7020
 attcgagcaa ccatccgacc atccggcgcc gaactgggtc gcacaatcgc cgtccggccg 7080
 cgcacacatc ggatggtggc tcggcccca ccacgtgtgc cgcaccgaca gcgcccgact 7140
 gacgccactg cgctacgcc accgcatcga aaccggcctc aagatcagcg tcggcggcga 7200
 tttcgcgtat ggcgggcaac tgaccaaaaa cccgattcac cccgattggg agacgatcta 7260
 cggcccggcc accccgtaca cattgcggca gctggccacc atccacacac cccggcagat 7320
 gccgcgtcgg cccgatcggg ccgtgggcct gggccgcaac gtcacatgt tcgacgccac 7380
 ccggcgatgg gcataccgc agtgggtggc acaccgaaac ggaaccggcc gcgactggga 7440
 ccatctctgc ctgcagcact gccacgccgt caacaccgag ttcacgacac cactgccgtt 7500
 caccgaagta cgcgccaccg cgcaatccat ctccaaatgg atctggcgca atttcaccga 7560
 agaacagtac cgagcccgac aagcgcattt cgggtcaaaa ggccggcaagg caacgacact 7620
 cgccaaacaa gaagccgtcc gaaacaatgc aagaaagtac gacgaacata cgatgcgaga 7680
 ggcgattatc tgatgggagg agccaaaaat ccggtgcgcc gaaagatgac ggcagcagca 7740
 gcagccgaaa aattcgggtgc ctccactcgc acaatccaac gcttgtttgc tgagccgcgt 7800
 gacgattacc tcggccgtgc gaaagctcgc cgtgacaaag ctgtcgagct gcggaagcag 7860
 gggttgaagt accgggaaat cgccgaagcg atggaactct cgaccgggat cgtcggccga 7920
 ttactgcacg acgcccgcag gcacggcgag atttcagcgg aggatctgtc ggcgtaacca 7980
 agtcagcggg ttgtcgggtt ccggccggcg ctccggcactc ggaccggccg gcggtggtg 8040
 ttctgcctct ggcgcagcgt cagctaccgc cgaaggcctg tcatcgaccg gcttcgactg 8100
 aagtatgagc aacgtcacag cctgtgattg gatgatccgc tcacgctcga ccgctacctg 8160
 ttcagctgcc gcccgctggg catgagcaac ggccaactct cgttcaa 8207

<210> 92

<211> 8211

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-QT2

<400> 92

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttcccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaattcgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagccctca tgcacagcat 300
cgcgcccggt gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttccggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctcgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgga cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtctttctcc ttcccgctgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggttggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggccc 840
ttccgacctg ttccgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcgccc aaccgataag cgcctctgtt cctcggaagc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtcgggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgttctca cgctttaggc ttgaccccg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccaactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcacc tggtatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggctactgc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgtatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctcggagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgctcgcttc 1560
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620

ctacgccgga cgcacgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgccta 1680
tatcgccgac atcacgatg gggaagatcg ggctcgccac ttctgggtca tgagcgcttg 1740
tttcggcggtg ggtatggttg caggccccgt ggccggggga ctgttgggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttctttgogg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaatagcag gagtcgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaaccc 1920
agtcagctcc ttccgggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgga cgatgatcg cctgtcgctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcactggtcc cgccaccaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgct gggctacgtc ttgctggcgt tcgagcgcg 2220
aggctggatg gccttccccca ttatgattct tctcgcttc ggcggcacgc ggatgcccgc 2280
gttgcaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacat cagggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggt cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgta cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgccg ccctatacct 2460
tgtctgcctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagcaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcga aaccaaccct tggcagaaca tatccatcg gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcacg 2700
atcgtgctcc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg ccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcagggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgtcgc acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccgg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgcgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtaac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcaccggc 3420

gcttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atcgcccgca accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcaactcccg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacatc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttcctgtg cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cacttttaaa gttctgctat gtggcgcggt attatccgt attgaacgcg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacggt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4620
ctggctgggt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc ttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggttg tttgccgat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaata cctgttacca gtggctgctg 5220

ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatatgta ccggataagg 5280
cgacagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggccggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggcccttttg tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcagagtcag tgagcgagga agcgggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcgtgttgc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagtgc agtgatgggt atgggtgatgc tcgagagatc taagcttgga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatggc gtgatgggtga tgggtgatggc ccatatgtat atctccttct 6120
taaagttaaa caaaattatt tctagacgcc gtccacgctg cctcctcacg tgacgtgagg 6180
tgcaagcccc gacgttccgc gtgccacgcc gtgagccgcc gcgtgccgtc ggctccctca 6240
gcccggggcg ccgtggggagc ccgcctcgat atgtacaccc gagaagctcc cagcgtcctc 6300
ctggggccgc atactcgacc accacgcacg cacaccgcac taacgattcg gccggcgctc 6360
gattcggccg gcgctcgatt cggccggcgc tcgattcggc cggcgctcga ttcggccggc 6420
gctcgattcg gccgagcaga agagtgaaca accaccgacc acgcttccgc tctgcgcgcc 6480
gtacccgacc tacctcccgc agctcgaagc agtcccggg agtaccgccg tactcaccgc 6540
cctgtgctca ccatccaccg acgcaaagcc caacccgagc acacctcttg caccaaggtg 6600
ccgaccgtgg ctttccgctc gcaggggtcc agaagaaatc gaacgatcca gcgcggcaag 6660
gttcaaaaag caggggttgg tggggaggag gttttggggg gtgtcgccgg gatacctgat 6720
atggctttgt tttgcgtagt cgaataattt tccatatagc ctcggcgctg cggactcgaa 6780
tagttgatgt gggcgggcac agttgcccc tgaaatccgc aacggggggc gtgctgagcg 6840
atcggcaatg ggccgatgcg gtgttgcttc cgcaccggcc gttcgcgacg aacaacctcc 6900
aacgaggtca gtaccgatg agccgcgacg acgcattggc aatgcggtac gtcgagcatt 6960
caccgcacgc gttgctcgga tctatcgtca tcgactgca tcacgttgac gccgcgatgc 7020

gcgcattcga gcaaccatcc gaccatccgg cgccgaactg ggtcgcacaa tcgccgtccg 7080
 gccgcgcaca catcgatgg tggctcggcc ccaaccacgt gtgccgcacc gacagcgccc 7140
 gactgacgcc actgcgtac gccaccgca tcgaaaccgg cctcaagatc agcgctcggcg 7200
 gcgatttcgc gtatggcggg caactgacca aaaacccgat tcaccccgat tgggagacga 7260
 tctacggccc ggccaccccg tacacattgc ggcagctggc caccatccac acaccccggc 7320
 agatgccgcg tcggcccgat cgggccgtgg gcctggggcg caacgtcacc atgttcgacg 7380
 ccacccggcg atgggcatac ccgcagtggg ggcaacaccg aaacggaacc ggccgcgact 7440
 gggaccatct cgtcctgcag cactgccacg ccgtcaacac cgagttcacg acaccactgc 7500
 cgttcaccga agtacgcgcc accgcgcaat ccatctccaa atggatctgg cgcaatttca 7560
 ccgaagaaca gtaccgagcc cgacaagcgc atctcgggtca aaaaggcggc aaggcaacga 7620
 cactcgccaa acaagaagcc gtccgaaaca atgcaagaaa gtacgacgaa catacgatgc 7680
 gagaggcgat tatctgatgg gcggagccaa aaatccggtg cgccgaaaga tgacggcagc 7740
 agcagcagcc gaaaaattcg gtgcctccac tcgcacaatc caacgcttgt ttgctgagcc 7800
 gcgtgacgat tacctcggcc gtgcgaaagc tcgccgtgac aaagctgtcg agctgcggaa 7860
 gcaggggttg aagtaccggg aaatcgccga agcgatggaa ctctcgaccg ggatcgtcgg 7920
 ccgattactg cacgacgcc gcaggcacgg cgagatttca gcggaggatc tgtcggcgta 7980
 accaagtcag cgggttgtcg ggttcgggcc ggcgctcggc actcggaccg gccggcggat 8040
 ggtgttctgc ctctggcgca gcgtcagcta ccgccgaagg cctgtcatcg accggcttcg 8100
 actgaagtat gagcaacgtc acagcctgtg attggatgat ccgctcacgc tcgaccgcta 8160
 cctgttcagc tgccgcccgc tgggcatgag caacggccaa ctctcgttca a 8211

<210> 93

<211> 8275

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-RT1

<400>-93

gttaacgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60

cttcccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacaccccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaattccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagccccctca tgcacagcat 300
cgcgggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcgtcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgga cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgctgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgccctt 720
cattcgggac agcgggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggtggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggccc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatacag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac ccggttctca cgcttttaggc ttgaccccgg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaaccc ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccaactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcaccc tggatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggctactgcc gggcctcttg cgggatatac tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgtatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcaccggtt ctggagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtcc tgctcgcttc 1560
gtacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcatcgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgccta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttgggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttccttgccg cggcggtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860

cctaatagcag gagtcgcata agggagagcgc tcgtccgatg cccttgagag ccttcaaccc 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgtc gccgcactta tgactgtctt 1980
ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgcctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgcga cgatgatcgg cctgtcgcctt gcggtattcg gaatcttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcaactggctc cgccaccaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgct gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttcccca ttatgattct tctcgcttcc ggcggcatcg ggatgccgcg 2280
gttgacggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgacct cagggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggct cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgcgc ccctatacct 2460
tgtctgctc cccgcgttgc gtcgcggtgc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagccaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcgca aaccaacct tggcagaaca tatccatcg gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgtttctcgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accggggggg gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg ccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgcctc acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccgg 3120
ccgcggaacc gcgcgcgcac ctgcgcgcc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcggcg gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtaac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcaccggc 3420
gcttcgtcgc cctgatggac gcggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atgccccgca accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgctc cggcacaccc 3660

cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcactcccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780
acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatTTTTtct aaatacattc aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt ccctTTTTtg cggcattttg ccttcctggt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cactttttaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcca 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgcac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg 4620
ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040
cgggtggtttg tttgccggat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgcta at cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttgag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggctcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460

ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580
cggccttttt acggttcctg gccttttctg ggccttttgc tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgog cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcggtgttc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gctcacgggt gccggtgggt 6000
cgactagttc agtgatgggt atggtgatgc tcgagagatc taagcttgga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatatg gtgatgggtga tgggtggcca tggatatct ctttcttaaa 6120
gttaaacaaa attatttcta gacgccgtcc acgctgcctc ctcacgtgac gtgaggtgca 6180
agcccgagc ttccgcgtgc cacgccgtga gccgccgcgt gccgtcggct ccctcagccc 6240
gggcggccgt gggagccccg ctcgatatgt acaagcatgg ggactcgccg cggactagcg 6300
gcttcccgc acgccgtact gaccagcaga tcagcgataa acgctgtttc tgctggttaa 6360
gtggataaaa accaaataat cgatgaacct cgaagtggag tatccgagct gaactagctg 6420
gatttactcc gaaaatacga gcggcgacga aggggtgttg accaccctgc cgccgccttc 6480
gaggctccta cttgactagg accccgctcg ttatgaccag cgtaagtgtc gaacaccttt 6540
ccggcaaaga ccggccccct gtcctcgtgt cgtccgataa gcgcggcatc cggcacgaac 6600
ttcgaccaa acttcaacaa atcaccacgt cagaaacttt taatgcgtgc ggccggccga 6660
tttccggcgt gaacgggtgt accatcgtca acggtcccaa aggttccgga tttggaggcc 6720
ttcgctcctg cggaaagggc tggatctgcc cctgctgtgc gggaaaagtc ggcgcacatc 6780
gagcagacga aatttctcaa gttgttgctc atcaactcgg gactggatct gttgcgatgg 6840
tgaccatgac catgcgccat accgctgggc agcgtttgca tgatttgttg actggacttt 6900
cggcagcctg gaaagctgcg accaatggcc gccgatggcg taccgaacgt gaaatgtacg 6960
gctgcgacgg atacgtacga gctgttgaaa tcactcacgg aaaaaacggt tggcacgttc 7020
acgtccacgc tctactcatg ttcagcgggt acgtgagtga gaacatcctc gaatccttct 7080
cggatgcgat gttcgatcgg tggacctcca aactcgtgtc tctgggattt gctgcgccac 7140
tacgtaattc aggtggactc gacgtaagaa agattgggtg agaagctgac caagttctcg 7200
ctgcatacct gacgaaaatt gcatccgggg tcggcatgga agtcggcagt ggcgacggaa 7260

aaagtgggtcg gcacggcaac cgtgcacctt gggaaatcgc cgttgatgca gtcggaggag 7320
 atccacaagc gttggaactc tggcgcgagt ttgagttcgg ttcgatggga cgccgagcaa 7380
 tcgcatggtc tcgtggactg cgcgcccgag ctggtcttgg cgtagaactc acggatgctc 7440
 agattgtcga acaggaagaa tctgccccgg tcatggttgc gatcattccg gctcggtcct 7500
 ggatgatgat tcggaactgt ggcgcttacg ttttcggaga gatccttgga ctcgtggaag 7560
 cgggcgcgac ctgggaaaac cttcgtgacc acttgcattha tcgattgcct gcagcggatg 7620
 tgcggcctcc gataatatcg attcgtaagt gaaatgtctt ggtgtgcaac aactttcact 7680
 cgtatgaacc acacttgagg gcatcccccc gatacttgcc gctttgaagc tgggtgtctc 7740
 tctgtcaggg ctgcgatagc accgcgtagc ggcttggcct tgacagagag acggcctgtt 7800
 tcatggttgg tctcgggggg ctgaccgggc agatagaaaa aggccggccg atttggctgc 7860
 cgactatatt tgcaggtaaa cccatctcat gagcatcaat gaacgtcccg ttggtatcgc 7920
 agcgaatgca gcttcggtag acgtcgatgg cgttgtgatg ggtgtgtatc tctcgcttta 7980
 tgggcaagaa atcacgctag atcgagatga tgcgttccta ctctcgatc gacttcagga 8040
 cgcgttgcga cctcaagcca actaagaacc ctccagatgg tctaaacgag gcgcaaactc 8100
 gctcctgggc ctgcgggcgg agcaccgaag cgcgagcgaa gcggagcgcg taggtggggg 8160
 agcctgcggg cagcggcggc ggagccgccg ccttggtaat aggtgatcat cggggccata 8220
 gcaggtcaga ggatgttttt acgatgactc atgctcacca cgccaagtac tgatg 8275

<210> 94

<211> 8279

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-RT2

<400> 94

gttaacgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
 cttccccttg cgttgggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
 tcacacccca ggaatcgcg t cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180

ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttccggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcgtcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgctgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgctctgtt cctcggaacg tcggttctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatctcgag gtcaacggtc 1080
gtgggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagagtaacg ggctactccg tttaacggac cccgttctca cgcttttagg ttgaccccg 1200
agcctgcatg gggcattccg ccgtgaacct ggtggaatgc ccccggcacc cgggctttcc 1260
agcaaagatc acctggcgcc gatgagtaag gcgtacagaa ccactccaca ggaggaccgt 1320
cgagatgaaa tctaacaatg cgctcatcgt catcctcggc accgtcaccc tggatgctgt 1380
aggcataggc ttggttatgc cggctactgcc gggcctcttg cgggatatcg tccattccga 1440
cagcatcgcc agtcactatg gcgtgctgct agcgtatat gcgttgatgc aatttctatg 1500
cgcacccgtt ctcgagcac tgtccgaccg ctttggccgc cgcccagtc tgctcgcttc 1560
gctacttgga gccactatcg actacgcgat catggcgacc acaccgtcc tgtggattct 1620
ctacgccgga cgcatcgtgg ccggcatcac cggcgccaca ggtgcggttg ctggcgcta 1680
tatcgccgac atcaccgatg gggaagatcg ggctcgccac ttcgggctca tgagcgcttg 1740
tttcggcgtg ggtatggtgg caggccccgt ggccggggga ctgttgggcg ccatctcctt 1800
gcatgcacca ttcttgcg gcggcgtgct caacggcctc aacctactac tgggctgctt 1860
cctaattgag gagtcgcata agggagagcg tcgtccgatg cccttgagag ccttcaacct 1920
agtcagctcc ttccggtggg cgcggggcat gactatcgt gccgcaacta tgactgtctt 1980

ctttatcatg caactcgtag gacaggtgcc ggcagcgctc tgggtcattt tcggcgagga 2040
ccgctttcgc tggagcgcgga cgatgatcgg cctgtcgctt gcggtattcg gaatccttgca 2100
cgccctcgct caagccttcg tcaactgggtcc cgccaccaa cgtttcggcg agaagcaggc 2160
cattatcgcc ggcatggcgg ccgacgcgct gggctacgtc ttgctggcgt tcgcgacgcg 2220
aggctggatg gccttcccca ttatgattct tctcgcttcc ggcggcatcg ggatgcccgc 2280
gttgacaggcc atgctgtcca ggcaggtaga tgacgaccat cagggacagc ttcaaggatc 2340
gctcgcggct cttaccagcc taacttcgat cattggaccg ctgatcgtca cggcgattta 2400
tgccgcctcg gcgagcacat ggaacgggtt ggcatggatt gtaggcgcgc ccctatacct 2460
tgtctgcctc ccgcggttgc gtcgcgggtc atggagccgg gccacctga cctgaatgga 2520
agccggcggc acctcgctaa cggattcacc actccaagaa ttggagcaa tcaattcttg 2580
cggagaactg tgaatgcgca aaccaaccct tggcagaaca tatccatcgc gtccgccatc 2640
tccagcagcc gcacgcggcg catctcgggc agcgttgggt cctggccacg ggtgcgcatg 2700
atcgtgctcc tgtcgttgag gactagaatt gatctcctcg accgccaatt gggcatctga 2760
gaatcatctg cgttttctgc acgcaacgta cttgcaacgt tgcaactcct agtgttgtga 2820
atcacacccc accgggggggt gggattgcag tcaccgattt ggtgggtgcg ccaggaaga 2880
tcacgtttac ataggagctt gcaatgagct actccgtggg acaggtggcc ggcttcgccg 2940
gagtgcgggt gcgcacgctg caccactacg acgacatcgg cctgctcgta ccgagcgagc 3000
gcagccacgc gggccaccgg cgctacagcg acgccgacct cgaccggctg cagcagatcc 3060
tgttctaccg ggagctgggc ttcccgctcg acgaggtcgc cgccctgctc gacgaccggg 3120
ccgcggaccc gcgcgcgcac ctgcgcgcgc agcacgagct gctgtccgcc cggatcggga 3180
aactgcagaa gatggcgggc gccgtggagc aggcgatgga ggcacgcagc atgggaatca 3240
acctacccc ggaggagaag ttcgaggtct tcggcgactt cgaccccgac cagtacgagg 3300
aggaggtccg ggaacgctgg gggaacaccg acgcctaccg ccagtccaag gagaagaccg 3360
cctcgtacac caaggaggac tggcagcgca tccaggacga ggccgacgag ctcaccgggc 3420
gttcgtcgc cctgatggac gcgggtgagc ccgccgactc cgagggggcg atggacgccg 3480
ccgaggacca ccggcagggc atcgcccga accactacga ctgcgggtac gagatgcaca 3540
cctgcctggg cgagatgtac gtgtccgacg aacgtttcac gcgaaacatc gacgccgcca 3600
agccgggcct cgccgcctac atgcgcgacg cgatcctcgc caacgccgtc cggcacaccc 3660
cctgagcggg ggtcgtggcc cgggtctccc gcccggtctc accccacggc tcaactcccgg 3720
gccacgacca ccgccgtccc gtacgcgcac acctcggtgc ccacgtccgc cgcctccgtc 3780

acgtcgaaac ggaagatccc cgggtaccga gctcgtcagg tggcactttt cggggaaatg 3840
tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacatte aaatatgtat ccgctcatga 3900
gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg agtattcaac 3960
atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ccttcctgtt tttgctcacc 4020
cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga gtgggttaca 4080
tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa gaacgttttc 4140
caatgatgag cactttttaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt attgacgccg 4200
ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt gagtactcac 4260
cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc agtgctgcc 4320
taaccatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg 4380
agctaaccgc ttttttgcaac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat cgttgggaac 4440
cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct gtagcaatgg 4500
caacaacgtt gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat 4560
taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttcg 4620
ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tgggtctcgc ggtatcattg 4680
cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg acggggagtc 4740
aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca ctgattaagc 4800
attggtaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta aaacttcatt 4860
tttaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc aaaatccctt 4920
aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa ggatcttctt 4980
gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca ccgctaccag 5040
cggtggtttg tttgccgat caagagctac caactctttt tccgaaggta actggcttca 5100
gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagtgtagcc gtagttaggc caccacttca 5160
agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaat cctgttacca gtggctgctg 5220
ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta ccggataagg 5280
cgcagcggtc gggctgaacg ggggggttcgt gcacacagcc cagcttggag cgaacgacct 5340
acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt cccgaaggga 5400
gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggctcggaac aggagagcgc acgagggagc 5460
ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac ctctgacttg 5520
agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac gccagcaacg 5580

cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggcccttttg tcacatgttc tttcctgcgt 5640
tatcccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat accgctcgcc 5700
gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggaagag cgcccaatac 5760
gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg cagctggcac gactagagtc 5820
ccgctgaggc ggcgtagcag gtcagccgcc ccagcgggtg tcaccaaccg ggggtggaacg 5880
gcgccggtat cgggtgtgtc cgtggcgctc attccaacct ccgtgtgttt gtgcaggttt 5940
cgcggtgtgc agtccctcgc accggcaccc gcagcgaggg gctcacgggt gccgggtgggt 6000
cgactagtgc agtgatgggt atggtgatgc tcgagagatc taagcttga tccgcggccg 6060
ctacgtagaa ttcccatggc gtgatgggtga tgggtgatggc ccatatgtat atctccttct 6120
taaagttaaa caaaattatt tctagacgcc gtccacgctg cctcctcacg tgacgtgagg 6180
tgcaagcccg gacgttccgc gtgccacgcc gtgagccgcc gcgtgccgtc ggctccctca 6240
gcccggggcg ccgtggggagc ccgcctcgat atgtacaagc atggggactc gccgcggact 6300
agcggcttcc cgacacgccg tactgaccag cagatcagcg ataaacgctg tttctgctgg 6360
ttaagtggat aaaaaccaa taatcgatga acctcgaagt ggagtatccg agctgaacta 6420
gctggattta ctccgaaaat acgagcggcg acgaagggtg ttggaccacc ctgccgccgc 6480
cttcgaggct cctacttgac taggaccccg ctcgttatga ccagcgtaag tgctgaacac 6540
ctttccggca aagaccggcc ccctgtcctc gtgtcgtccg ataagcgcg catccggcac 6600
gaacttcgac ccaaacttca acaaatcacc acgtcagaaa cttttaatgc gtgcggccgg 6660
ccgatttccg gcgtgaacgg tgtgaccatc gtcaacggtc ccaaaggttc cggatttgga 6720
ggccttcgct cctgcggaaa gggctggatc tgcccctgct gtgcgggaaa agtcggcgca 6780
catcgagcag acgaaatttc tcaagttggt gctcatcaac tcgggactgg atctgttgcg 6840
atggtgacca tgaccatgcg ccataccgct gggcagcgtt tgcatgattt gtggactgga 6900
ctttcggcag cctggaaagc tgcgaccaat ggccgccgat ggcgtaccga acgtgaaatg 6960
tacggctgcg acggatacgt acgagctggt gaaatcactc acggaaaaaa cggttggcac 7020
gttcacgtcc acgctctact catgttcagc ggtgacgtga gtgagaacat cctcgaatcc 7080
ttctcggatg cgatgttcga tcggtggacc tccaaactcg tgtctctggg atttgctgcg 7140
ccactacgta attcaggtgg actcgacgta agaaagattg gtggagaagc tgaccaagtt 7200
ctcgctgcat acctgacgaa aattgcatcc ggggtcggca tggaagtcgg cagtggcgac 7260
ggaaaaagtg gtcggcacgg caaccgtgca ccttgggaaa tcgccgttga tgcagtcgga 7320
ggagatccac aagcgttgga actctggcgc gagtttgagt tcggttcgat gggacgccga 7380

gcaatcgcat ggtctcgtgg actgcgcgcc cgagctggtc ttggcgtaga actcacggat 7440
gctcagattg tcgaacagga agaatctgcc ccggtcatgg ttgcgatcat tccggctcgg 7500
tcctggatga tgattcggaa ctgtgcgcct tacgttttcg gagagatcct tggactcgtg 7560
gaagcgggcg cgacctggga aaaccttcgt gaccacttgc attatcgatt gcctgcagcg 7620
gatgtgcggc ctccgataat atcgattcgt aagtgaatg tcttggtgtg caacaacttt 7680
cactcgtatg aaccacactt gagggcatcc ccccgatact tgccgctttg aagctgggtg 7740
tctctctgtc agggctgcga tagcacgcg tagcggcttg gccttgacag agagacggcc 7800
tgtttcatgg ttggtctcgg ggggctgacc gggcagatag aaaaaggccg gccgatttgg 7860
ctgccgacta tttttgcagg taaaccatc tcatgagcat caatgaacgt cccgttggtgta 7920
tcgcagcgaa tgcagcttcg gtagacgtcg atggcgttgt gatgggtgtg tatctctcgc 7980
tttatgggca agaaatcacg ctagatcgag atgatgcgtt cctactcctc gatcgacttc 8040
aggacgcgtt gcgacctcaa gccaaactaag aacctccag atggtctaaa cgaggcgcaa 8100
actcgctcct gggcctgcgg gcggagcacc gaagcgcgag cgaagcggag cgcgtaggtg 8160
ggggagcctg cgggcagcgg cgggcgagcc gccgccttgg taataggtga tcatcggggc 8220
catagcaggt cagaggatgt ttttacgatg actcatgctc accacgcaa gtactgatg 8279

<210> 95

<211> 8384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-QC1

<400> 95

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgct cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaatccgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300

cgcgccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgast cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcgtcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgcctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagacgcata cgaaacctcc acccactca cctagtcgga catccgtacc ttggaaaccg 1200
acctgtattg gcatttcagt tggacatcga ccagtggcgt tgctaggttc aagaccatgt 1260
ccagcccgaa ggcgtccaga ctctagccac cggaggtagt ccggtggcca catcccgtcg 1320
cgcccgaacg tcacgctctt gtgtggcctt cccttgttgt ttgcgatcag tggcacacct 1380
ctaccgtctg aatttcagat ctggcctcgg ctgcgcacat ctgcactgt gacgtgtca 1440
ggtcaccgcg ttcgcggcta ccagttcctt tcatcgaatc gagcttcggg tgccgccgcg 1500
cagcctccct gaccatcctc agattttatg gagtctcgca gtgcctttcg ctatctacgt 1560
cctcgggctt gctgtcttcg cccagggcac atccgagttc atgttgctcg gactcatacc 1620
ggacatggcc cgtgacctcg gggtttcggt cccgccgcc ggactcctca cctccgcctt 1680
cgcggtcggg atgatcatcg gcgctccgtt gatggctatc gccagcatgc ggtggccccg 1740
gcgacgcgcc cttctgacat tcctcatcac gttcatgctg gtccacgtca tcggcgcgct 1800
caccagcagc ttcgaggtct tgctggtcac acgcatcgtg ggagccctcg ccaatgccgg 1860
attcttgga gtggccctgg gggcgcgat ggcgatggtg cccgccgaca tgaaagggcg 1920
cgccacgtcc gtcctcctcg gcggtgtcac gatcgcatgt gtagccggtg ttcccggggg 1980
cgccttcctg ggtgaaatgt ggggctggcg tgcagcgttc tgggctgtcg tcgtcatctc 2040
cgccccgtga gtggtggcga ttatgttcgc cccccggcc gagccgcttg cagagtccac 2100

accgaatgcc aagcgtgaac tgtcctcact gcgctcacgc aagctccagc tcatgcttgt 2160
cctcggggcg ctgatcaacg gcgcaacgtt ctgttcgttc acgtacatgg cgcccacgct 2220
caccgacatc tccggtttcg actcccgttg gattccgttg ctgctggggc tgttcgggct 2280
cggatcgttc atcgggtgtca gcgtcggagg caggctcgcc gacacccggc cgttccaact 2340
gctcgtgtc gggtcgcag cactgttgac gggatggatc gtcttcgctc tcacggcatc 2400
ccaccccgcg gtgacattgg tgatgctgtt cgtgcagggc gctttgtcct tcgcggtcgg 2460
ctcgactttg atctcccagg tgctctacgc cgccgacgcg gcaccgacct tgggtggatc 2520
gttcgcgacg gccgcgttca acgtcgggtg tgcaactggga ccggcgctcg gcgggttggc 2580
gatcggcatg ggtctgagct accgcgcccc gctctggacg agcgccgcg tggtgacact 2640
cgcgatcgtc atcgggcgag ccacctgtc tctgtggcgg cgaccagcgt ctgtccacga 2700
atctgtcccc gcctgaccag aaaccaggat ctgtgagtgt ggtgactgat ctgtgcacgc 2760
tcagcagtca ccgcgcgtc gcgtcgtacc gagggccagc gccaacagggt gtgtggagct 2820
ctgcccctgc ctctttcacg cgaaactcact gttcagtgcg gcgatacgtg ctcggtgagt 2880
tccactacag cgaccatgac tagaattgat ctctcgacc gccaatggg catctgagaa 2940
tcatctgcgt ttctcgacg caacgtactt gcaacgttgc aactcctagt gttgtgaatc 3000
acacccacc ggggggtggg attgcagtca ccgatttggg ggggtgcgcc aggaagatca 3060
cgtttacata ggagcttgca atgagctact ccgtgggaca ggtggccggc ttcccgagg 3120
tgacggtgcg cacgctgcac cactacgacg acatcggcct gctcgtaccg agcgagcgca 3180
gccacgcggg ccaccggcgc tacagcgacg ccgacctga ccggctgcag cagatcctgt 3240
tctaccggga gctgggcttc ccgctcgacg aggtcgccgc cctgctcgac gacccggccg 3300
cggacccgcg cgcgcacctg cgccgccagc acgagctgct gtccgcccgg atcgggaaac 3360
tgcagaagat ggcggcggcc gtggagcagg cgatggaggc acgcagcatg ggaatcaacc 3420
tcaccccgga ggagaagttc gaggtcttcg gcgacttcga ccccgaccag tacgaggagg 3480
aggtccggga acgctggggg aacaccgacg cctaccgcca gtccaaggag aagaccgcct 3540
cgtaacacaa ggaggactgg cagcgcatcc aggacgaggc cgacgagctc acccggcgt 3600
tcgtcgccct gatggacgcg ggtgagcccg ccgactccga gggggcgatg gacgccgccg 3660
aggaccaccg gcagggcatc gcccgaacc actacgactg cgggtacgag atgcacacct 3720
gcctgggcga gatgtacgtg tccgacgaac gtttcacgcg aaacatcgac gccgccaagc 3780
cgggcctcgc cgcctacatg cgcgacgca tcctcgccaa cgccgtccgg cacacccct 3840
gagcggtggt cgtggcccg gtctcccgcc cgtctcacc ccacggctca ctcccgggcc 3900

acgaccaccg ccgtcccgta cgcgcacacc tcggtgcca cgtccgccgc ctccgtcacg 3960
tcgaaacgga agatccccgg gtaccgagct cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc 4020
gcggaacccc tttttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 4080
aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 4140
tccgtgtcgc ccttattccc ttttttgccg cattttgcct tcctgttttt gctcaccag 4200
aaacgctggg gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 4260
aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg ccccgaaaga cgttttccaa 4320
tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcgggtatt atcccgtatt gacgccgggc 4380
aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctcaaatga cttggttgag tactcaccag 4440
tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 4500
ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 4560
taaccgcttt ttgacacaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg 4620
agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 4680
caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa 4740
tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg 4800
gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag 4860
cactggggcc agatggtaag ccctcccgta tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg 4920
caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 4980
ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 5040
aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaa atcccttaac 5100
gtgagtttcc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 5160
atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 5220
tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggttaact ggcttcagca 5280
gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 5340
actctgtagc accgcctaca tacctcgctc tgctaatact gttaccagtg gctgctgcca 5400
gtggcgataa gtctgtcttt accgggttg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 5460
agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 5520
ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaaa 5580
aggcggacag gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 5640
cagggggaaa cgcttggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc 5700

gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 5760
ccttttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat 5820
cccctgattc tgtggataac cgtattaccg cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca 5880
gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 5940
aaccgcctct ccccgcgcggt tggccgattc attaatgcag ctggcacgac tagagtcccg 6000
ctgaggcggc gtagcaggtc agccgccccca gcggtgggtca ccaaccgggg tggaacggcg 6060
ccggtatcgg gtgtgtcögt ggcgctcatt ccaacctccg tgtgtttgtg caggtttcgc 6120
gtgttgcagt ccctcgcacc ggcacccgca gcgaggggct cacgggtgcc ggtgggtcga 6180
ctagttcagt gatgggtgatg gtgatgctcg agagatctaa gcttgatcc gcggccgcta 6240
cgtagaattc ccatatgggtg atgggtgatgg tggcccatgg tatatctcct tcttaaagtt 6300
aaacaaaatt atttctagac gccgtccacg ctgcctcctc acgtgacgtg aggtgcaagc 6360
ccggacgttc cgcgtgccac gccgtgagcc gccgcgtgcc gtcggctccc tcagcccggg 6420
cggccgtggg agcccgccctc gatatgtaca cccgagaagc tcccagcgtc ctctggggcc 6480
gcgatactcg accaccacgc acgcacaccg cactaacgat tcggccggcg ctcgattcgg 6540
ccggcgctcg attcggccgg cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc ggcgctcgat 6600
tcggccgagc agaagagtga acaaccaccg accacgcttc cgctctgcgc gccgtaccgg 6660
acctacctcc cgcagctcga agcagctccc gggagtaccg ccgtactcac ccgcctgtgc 6720
tcaccatcca ccgacgcaaa gcccaccccg agcacacctc ttgcaccaag gtgccgaccg 6780
tggctttccg ctcgcagggt tccagaagaa atcgaacgat ccagcgcggc aaggttcaaa 6840
aagcaggggt tgggtggggag gaggttttgg ggggtgtcgc cgggatacct gatatggctt 6900
tgttttgct agtcgaataa ttttccatat agcctcggcg cgtcggactc gaatagttga 6960
tgtgggcccgg cacagttgcc ccatgaaatc cgcaacgggg ggcggtgctga gcgatcggca 7020
atgggcggat gcggtgttgc ttccgcaccg gccgttcgcg acgaacaacc tccaacgagg 7080
tcagtaccgg atgagccgcg acgacgcatt ggcaatgcgg tacgtcgagc attcaccgca 7140
cgcgttgctc ggatctatcg tcatcgactg cgatcacgtt gacgccgcga tgccgcgatt 7200
cgagcaacca tccgaccatc cggcgccgaa ctgggtcgca caatcgccgt ccggccgcgc 7260
acacatcgga tgggtggctcg gcccaccca cgtgtgccgc accgacagcg cccgactgac 7320
gccactgcgc tacgcccacc gcatcgaaac cggcctcaag atcagcgtcg gcggcgattt 7380
cgcgtatggc gggcaactga ccaaaaaccc gattcacccc gattgggaga cgatctacgg 7440
cccggccacc ccgtacacat tgccggcagct ggccaccatc cacacacccc ggcagatgcc 7500

gcgtcggccc gatcgggccc tgggcctggg ccgcaacgtc accatgttcg acgccacc'cg 7560
 gcgatgggca taccgcagc ggtggcaaca ccgaaacgga accggccgcg actgggacca 7620
 tctcgtcctg cagcactgcc acgccgtcaa caccgagttc acgacaccac tgccgttcac 7680
 cgaagtacgc gccaccgcgc aatccatctc caaatggatc tggcgcaatt tcaccgaaga 7740
 acagtaccga gcccgacaag cgcatctcgg tcaaaaaggc ggcaaggcaa cgacactcgc 7800
 caaacaagaa gccgtccgaa acaatgcaag aaagtacgac gaacatacga tgcgagaggc 7860
 gattatctga tgggcggagc caaaaatccg gtgcgccgaa agatgacggc agcagcagca 7920
 gccgaaaaat tcggtgcctc cactcgcaca atccaacgtc tgtttgctga gccgcgtgac 7980
 gattacctcg gccgtgcgaa agctcgccgt gacaaagctg tcgagctgcg gaagcagggg 8040
 ttgaagtacc gggaaatcgc cgaagcgatg gaactctcga ccgggatcgt cggccgatta 8100
 ctgcacgacg cccgcaggca cggcgagatt tcagcggagg atctgtcggc gtaaccaagt 8160
 cagcgggttg tcgggttcgc gccggcgctc ggcaactcga ccggccggcg gatggtgttc 8220
 tgcctctggc gcagcgtcag ctaccgccga aggctgtca tcgaccggct tcgactgaag 8280
 tatgagcaac gtcacagcct gtgattggat gatccgtcga cgctcgaccg ctacctgttc 8340
 agctgccgcc cgctgggcat gagcaacggc caactctcgt tcaa 8384

<210> 96

<211> 8388

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-QC2

<400> 96

gagctcgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
 cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
 tcacacccca ggaatcgcgt cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
 ggacaccatc gcaaattcgt ccgatccgcg ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
 gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300

cgcgggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttag ttcaaggggg agcgggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtggtcgttc tcgacggggg 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgctcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagt acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgccct 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggtggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagacgcata cgaaacctcc accccactca cctagtcgga catccgtacc ttggaaaccg 1200
acctgtattg gcatttcagt tggacatcga ccagtggcgt tgctaggttc aagaccatgt 1260
ccagcccga ggcgtccaga ctctagccac cggaggtagt ccggtggcca catcccgtcg 1320
cgcccgaacg tcacgctctt gtgtggcctt cccttggtgt ttgcgatcag tggcacacct 1380
ctaccgtctg aatttcgagt ctggcctcgg ctgcgcacat ctgcactgt gacgtgtca 1440
ggtcaccgcg ttgcgggcta ccagttcctt tcacgaatc gagcttcggg tgccgcccgcg 1500
cagcctccct gaccatcctc agattttatg gagtctcgca gtgcctttcg ctatctacgt 1560
cctcgggctt gctgtcttcg ccagggcac atccgagttc atgttgtccg gactcatacc 1620
ggacatggcc cgtgacctcg gggtttcggg ccccgccgcc ggactcctca cctccgcctt 1680
cgcggtcggg atgatcatcg gcgctccggt gatggctatc gccagcatgc ggtggccccg 1740
gcgacgcgcc cttctgacat tcctcatcac gttcatgctg gtccacgtca tcggcgcgct 1800
caccagcagc ttcgaggctt tgctggtcac acgcacgtg ggagccctcg ccaatgccgg 1860
attcttggca gtggccctgg gggcgggcgat ggcgatggg cccgccgaca tgaaaggcg 1920
cgccacgtcc gtctcctcg gcggtgtcac gatcgcatgt gtagccgggtg ttcccggggg 1980
cgcttcctg ggtgaaatgt ggggctggcg tgcagcgttc tgggctgtcg tcgtcatctc 2040
cgcccctgca gtggtggcga ttatgttcgc cccccggcc gagccgcttg cagagtccac 2100

accgaatgcc aagcgtgaac tgtcctcact gcgctcacgc aagctccage tcatgcttgt 2160
cctcggggcg ctgatcaacg gcgcaacgtt ctgttcgttc acgtacatgg cgcccacgct 2220
caccgacatc tccggtttcg actcccgttg gattccgttg ctgctggggc tgttcgggct 2280
cggatcgttc atcgggtgtca gcgtcggagg caggctcgcc gacaccggc cgttccaact 2340
gctcgtgtc ggggtccgag cactgttgac gggatggatc gtcttcgctc tcacggcatc 2400
ccaccccgcg gtgacattgg tgatgctgtt cgtgcagggc gctttgtcct tcgcggtcgg 2460
ctcgactttg atctcccagg tgctctacgc cgccgacgcg gcaccgacct tgggtggatc 2520
gttcgcgacg gccgcgttca acgtcgggtc tgcactggga ccggcgctcg gcgggttggc 2580
gatcggcatg ggtctgagct accgcgccc gctctggacg agcgccgcg tggtgacact 2640
cgcatcgtc atcggcgag ccacctgtc tctgtggcgg cgaccagcgt ctgtccacga 2700
atctgtcccc gcctgaccag aaaccaggat ctgtgagtgt ggtgactgat ctgtgcacgc 2760
tcagcagtca ccgcgcgtc gcgtcgtacc gagggccagc gccaacagggt gtgtggagct 2820
ctgcccctgc ctctttcacg cgaactcact gttcagtgcg gcgatacgtg ctcggtgagt 2880
tccactacag cgaccatgac tagaattgat ctctcgacc gccaatggg catctgagaa 2940
tcatctgctt ttctcgacg caacgtactt gcaacgttgc aactcctagt gttgtgaatc 3000
acacccacc ggggggtggg attgcagtca ccgatttggg ggggtgcgcc aggaagatca 3060
cgtttacata ggagcttgca atgagctact ccgtgggaca ggtggccggc ttccgaggag 3120
tgacggtgcg cacgctgcac cactacgacg acatcggcct gctcgtaccg agcgagcgca 3180
gccacgcggg ccaccggcg tgacgcgacg ccgacctga ccggctgcag cagatcctgt 3240
tctaccggga gctgggcttc ccgctcgacg aggtcgccgc cctgctcgac gacccggccg 3300
cggacccgcg cgcgcacctg cgccgccagc acgagctgct gtccgcccgg atcgggaaac 3360
tgcagaagat ggcggcggcc gtggagcagg cgatggaggc acgcagcatg ggaatcaacc 3420
tcaccccgga ggagaagttc gaggtcttcg gcgacttcga ccccgaccag tacgaggagg 3480
aggtccggga acgctggggg aacaccgacg cctaccgcca gtccaaggag aagaccgcct 3540
cgtacaccaa ggaggactgg cagcgcatcc aggacgaggc cgacgagctc acccggcgct 3600
tcgtgccct gatggacgcg ggtgagcccg ccgactccga gggggcgatg gacgccgccc 3660
aggaccaccg gcagggcacg gcccgcaacc actacgactg cgggtacgag atgcacacct 3720
gcctgggcga gatgtacgtg tccgacgaac gtttcacgcg aaacatcgac gccccaagc 3780
cgggcctcgc cgcctacatg cgcgacgga tcctcgccaa cgccgtccgg cacacccct 3840
gagcgggtgt cgtggcccgg gtctcccgcc cggctctacc ccacggctca ctcccgggcc 3900

acgaccaccg ccgccccgta cgcgcacacc tcggtgcccc cgtccgccgc ctccgtcacg 3960
tcgaaacgga agatccccgg gtaccgagct cgtcagggtg cacttttcgg ggaaatgtgc 4020
gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 4080
aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 4140
tccgtgtcgc ccttattccc ttttttgcgg cattttgcct tcctgttttt gctcaccag 4200
aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 4260
aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg cccgaagaa cgttttccaa 4320
tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc 4380
aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctcagaatga cttggttgag tactcaccag 4440
tcacagaaaa gcattcttac gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 4500
ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 4560
taaccgcttt ttgcacaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg 4620
agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 4680
caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa 4740
tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg 4800
gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag 4860
cactggggcc agatggtaag cctccccgta tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg 4920
caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 4980
ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 5040
aatttaaaag gatctagggt aagatccttt ttgataatct catgacaaa atcccttaac 5100
gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 5160
atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 5220
tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca 5280
gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 5340
actctgtagc accgcctaca tacctcgtc tgctaatacct gttaccagtg gctgctgcca 5400
gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 5460
agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 5520
ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaagggagaa 5580
aggcggacag gtatccggtg agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 5640
cagggggaaa cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc 5700

gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 5760
cctttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgtttctt cctgcgttat 5820
cccctgattc tgtggataac cgtattaccg cttttgagtg agctgatacc gctcgccgca 5880
gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 5940
aaccgcctct ccccgcgcggt tggccgattc attaatgcag ctggcacgac tagagtcccg 6000
ctgaggcggc gtagcaggtc agccgccccca gcggtggta ccaaccgggg tggaacggcg 6060
ccggtatcgg gtgtgtccgt ggcgctcatt ccaacctccg tgtgtttgtg caggtttcgc 6120
gtgttcagct ccctcgcacc ggcacccgca gcgaggggct cacgggtgcc ggtgggtcga 6180
ctagttcagct gatggtgatg gtgatgctcg agagatctaa gcttggtacc gcggccgcta 6240
cgtagaattc ccatggcgtg atggtgatgg tgatggccca tatgtatatc tcctttcttaa 6300
agttaaacia aattatttct agacgccgtc cacgctgcct cctcacgtga cgtgagggtc 6360
aagcccggac gttccgctg ccacgccgtg agccgccgcg tgccgtcggc tccctcagcc 6420
cgggcggccg tgggagcccg cctcgatatg tacacccgag aagctcccag cgtcctcctg 6480
ggccgcgata ctcgaccacc acgcacgcac accgcactaa cgattcggcc ggcgctcgat 6540
tcggccggcg ctcgattcgg ccggcgctcg attcggccgg cgctcgattc ggccggcgct 6600
cgattcggcc gagcagaaga gtgaacaacc accgaccag cttccgctct gcgcgccgta 6660
cccgacctac ctcccgcagc tcgaagcagc tcccgggagt accgccgtac tcacccgcct 6720
gtgctcacca tccaccgacg caaagcccaa cccgagcaca cctcttgac caaggtgccg 6780
accgtggctt tccgctcgca gggttccaga agaaatcgaa cgatccagcg cggcaagggt 6840
caaaaagcag gggttgggtg ggaggagggt ttgggggggtg tcgccgggat acctgatatg 6900
gctttgtttt gcgtagtcga ataattttcc atatagcctc ggcgcgctcg actcgaatag 6960
ttgatgtggg cgggcacagt tgcccatga aatccgcaac ggggggcgtg ctgagcgatc 7020
ggcaatgggc ggatgcggtg ttgcttcgc accggccgtt cgcgacgaac aacctccaac 7080
gaggtcagta ccgatgagc cgcgacgac cattggcaat gcggtacgtc gagcattcac 7140
cgcacgcgtt gctcgatct atcgtcatcg actgcgatca cgttgacgcc gcgatgcgcg 7200
cattcgagca accatccgac catccggcgc cgaactgggt cgcacaatcg ccgtccggcc 7260
gcgcacacat cggatgggtg ctcggcccca accacgtgtg ccgcaccgac agcggccgac 7320
tgacgccact gcgctacgcc caccgcatcg aaaccggcct caagatcagc gtcggcgcg 7380
atttcgcgta tggcgggcaa ctgacaaaaa acccgattca cccgattgg gagacgatct 7440
acggcccggc caccocgtac acattgcggc agctggccac catccacaca cccggcgaga 7500

tgccgcgtcg gcccgatcgg gccgtgggcc tgggcccga cgtcaccatg ttgcagcca 7560
 cccggcgatg ggcataccg cagtgggtggc aacaccgaaa cggaaccggc cgcgactggg 7620
 accatctcgt cctgcagcac tgccacgccg tcaacaccga gttcacgaca ccaactgccgt 7680
 tcaccgaagt acgcgccacc gcgcaatcca tctccaaatg gatctggcgc aatttcaccg 7740
 aagaacagta ccgagcccga caagcgcac tcgggtcaaaa aggccgcaag gcaacgacac 7800
 tcgccaacaa agaagccgtc cgaaacaatg caagaaagta cgacgaacat acgatgagag 7860
 aggcgattat ctgatgggcg gagccaaaaa tccgggtgcgc cgaaagatga cggcagcagc 7920
 agcagccgaa aaattcgggtg cctccactcg cacaatccaa cgcttggttg ctgagccgcg 7980
 tgacgattac ctcgcccggtg cgaaagctcg ccgtgacaaa gctgtcgagc tgcggaagca 8040
 ggggttgaag taccgggaaa tcgccgaagc gatggaactc tcgaccggga tcgtcggccg 8100
 attactgcac gacgcccga ggacggcgga gatttcagcg gaggatctgt cggcgtaacc 8160
 aagtcagcgg gttgtcgggt tccggccggc gctcggcact cggaccggcc ggccgatggg 8220
 gttctgcctc tggcgcagcg tcagctaccg ccgaaggcct gtcacgacc ggcttcgact 8280
 gaagtatgag caacgtcaca gcctgtgatt ggatgatccg ctcacgctcg accgctacct 8340
 gttcagctgc cgcccgctgg gcatgagcaa cggccaactc tcgttcaa 8388

<210> 97

<211> 8452

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-RC1

<400> 97

gttaacgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
 cttccccttg cgttggtgat tgccggtcag ggacgccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
 tcacacccca ggaatcgct cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
 ggacaccatc gcaaattcgt ccgatccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240
 gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300

cgcgggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcatcgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggggt 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcgtcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcggaac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgcctt 720
cattcgggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggttggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggcc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca cacggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagacgcata cgaaacctcc accccactca cctagtccga catccgtacc ttggaaaccg 1200
acctgtattg gcatttcagt tggacatcga ccagtggcgt tgctaggttc aagaccatgt 1260
ccagcccgaa ggcgtccaga ctctagccac cggaggtagt ccggtggcca catcccgtcg 1320
cgcccgaacg tcacgctctt gtgtggcctt cccttggtgt ttgcgatcag tggcacacct 1380
ctaccgtctg aatttcgagt ctggcctcgg ctgcgcacat ctgcactgt gacgtgtca 1440
ggtcaccgcg ttcgcggcta ccagttcctt tcatcgaatc gagcttccgg tgccgccgcg 1500
cagcctccct gaccatcctc agattttatg gagtctcgca gtgcctttcg ctatctacgt 1560
cctcgggctt gctgtcttcg ccagggcac atccgagttc atgttggtcg gactcatacc 1620
ggacatggcc cgtgacctcg gggtttcggt ccccgccgcc ggactcctca cctccgcctt 1680
cgcggtcggg atgatcatcg gcgctccgtt gatggctatc gccagcatgc ggtggccccg 1740
gcgacgcgcc cttctgacat tcctcatcac gttcatgctg gtccacgtca tcggcgcgct 1800
caccagcagc ttcgaggtct tgctggtcac acgcacgtg ggagccctcg ccaatgccgg 1860
attcttggca gtggccctgg gggcggcgat ggcgatggtg cccgccgaca tgaaagggcg 1920
cgccacgtcc gtcctcctcg gcggtgtcac gatcgcatgt gtagccggtg ttcccggggg 1980
cgccttcctg ggtgaaatgt ggggctggcg tgcagcgttc tgggctgtcg tcgtcatctc 2040
cgcccctgca gtggtggcga ttatgttcgc caccgccgcc gagccgcttg cagagtccac 2100

accgaatgcc aagcgtgaac tgtcctcact gcgctcacgc aagctccagc tcatgcttgt 2160
cctcggggcg ctgatcaacg gcgcaacgtt ctgttcgttc acgtacatgg cgcccacgct 2220
caccgacatc tccggtttcg actcccgttg gattccgttg ctgctggggc tgttcgggct 2280
cggatcggtc atcgggtgtca gcgtcggagg caggctcgcc gacacccggc cgttccaact 2340
gctcgtgtgc ggggtccgcag cactgttgac gggatggatc gtcttcgctc tcacggcatc 2400
ccaccccgcg gtgacattgg tgatgctgtt cgtgcagggc gctttgtcct tcgcggtcgg 2460
ctcgactttg atctcccagg tgctctacgc cgccgacgcg gcaccgacct tgggtggatc 2520
gttcgcgacg gccgcgttca acgtcgggtg tgcaactggga ccggcgctcg gcgggttggc 2580
gatcggcatg ggtctgagct accgcgcccc gctctggacg agcgccgcg tggtgacact 2640
cgcgatcgtc atcgggcgcag ccaccttgct tctgtggcgg cgaccagcgt ctgtccacga 2700
atctgtcccc gcctgaccag aaaccaggat ctgtgagtgt ggtgactgat ctgtgcacgc 2760
tcagcagtca ccgcgcgctc gcgtcgtacc gagggccagc gccaacaggt gtgtggagct 2820
ctgcccctgc ctctttcacg cgaactcact gttcagtgcg gcgatactg ctcggtgagt 2880
tccactacag cgaccatgac tagaattgat ctctcgacc gccaatggg catctgagaa 2940
tcatctgcgt ttctcgacg caacgtactt gcaacgttgc aactcctagt gttgtgaatc 3000
acaccccacc ggggggtggg attgcagtca ccgatttggg ggggtgcgcc aggaagatca 3060
cgtttacata ggagcttgca atgagctact ccgtgggaca ggtggccggc ttgcgccgag 3120
tgacgggtgc cacgctgcac cactacgacg acatcggcct gctcgtaccg agcgagcgca 3180
gccacgcggg ccaccggcg ctagcgacg ccgacctga ccggctgcag cagatcctgt 3240
tctaccggga gctgggcttc ccgctcgacg aggtcgccgc cctgctcgac gacccggccg 3300
cggacccgcg cgcgcacctg cgccgccagc acgagctgct gtccgcccgg atcgggaaac 3360
tgcagaagat ggcggcggcc gtggagcagg cgatggaggc acgcagcatg ggaatcaacc 3420
tcaccccgga ggagaagttc gaggtcttcg gcgacttcga ccccgaccag tacgaggagg 3480
aggtccggga acgctggggg aacaccgacg cctaccgcca gtccaaggag aagaccgcct 3540
cgtacaccaa ggaggactgg cagcgcaccc aggcagagc cgacgagctc acccggcgct 3600
tcgtcgccct gatggacgcg ggtgagccc cgcactcca gggggcgatg gacgccgccc 3660
aggaccaccg gcagggcatc gcccgcaacc actacgactg cgggtacgag atgcacacct 3720
gcctggggga gatgtacgtg tccgacgaac gtttcacgcg aaacatcgac gccgccaagc 3780
cgggcctcgc cgcctacatg cgcgacgca tcctcgcaa ccggtccgg cacaccccct 3840
gagcgggtgg cgtggcccgg gtctcccgc cgggtctacc ccacggctca ctcccgggcc 3900

acgaccaccg ccgccccgta cgcgcacacc tcggtgccca cgtccgccgc ctccgtcacg 3960
tcgaaacgga agatccccgg gtaccgagct cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc 4020
gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 4080
aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 4140
tccgtgtcgc ccttattccc ttttttgagg cattttgcct tcctgttttt gctcaccag 4200
aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg ggttacatcg 4260
aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg cccgaagaa cgttttccaa 4320
tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc 4380
aagagcaact cggtcgccgc atacactatt ctccagaatga cttggttgag tactcaccag 4440
tcacagaaaa gcactttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 4500
ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 4560
taaccgcttt tttgcacaac atgggggatc atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg 4620
agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 4680
caacgttgcg caaactatta actggcgaaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa 4740
tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg 4800
gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggt atcattgcag 4860
cactggggcc agatggtaag cctccccgta tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg 4920
caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 4980
ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttaaaa cttcattttt 5040
aattttaaag gatctagggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaa atccctaac 5100
gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 5160
atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 5220
tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca 5280
gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 5340
actctgtagc accgcctaca tacctcgctc tgctaatacct gttaccagtg gctgctgcca 5400
gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 5460
agcggtcggg ctgaacgggg ggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 5520
ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaaa 5580
aggcggacag gtatccggtg agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 5640
cagggggaaa cgcctggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc 5700

gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 5760
ccttttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat 5820
cccctgattc tgttgataac cgtattaccg cctttgagtg agctgatacc gctcgccgca 5880
gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 5940
aaccgcctct ccccgcgcggt tggccgattc attaatgcag ctggcacgac tagagtcccg 6000
ctgaggcggc gtagcaggtc agccgccccca gcggtgggtca ccaaccgggg tggaacggcg 6060
ccggtatcgg gtgtgtcctgt ggcgctcatt ccaacctcgg tgtgtttgtg caggtttcgc 6120
gtgttgcaagt ccctcgcacc ggcacccgca gcgaggggct cacgggtgcc ggtgggtcga 6180
ctagttcagt gatgggtgatg gtgatgctcg agagatctaa gcttggatcc gcggccgcta 6240
cgtagaattc ccatatgggtg atgggtgatgg tggcccatgg tatactctct tcttaaagtt 6300
aaacaaaatt atttctagac gccgtccacg ctgcctcctc acgtgacgtg aggtgcaagc 6360
ccggacgttc cgcgtgccac gccgtgagcc gccgcgtgcc gtcggctccc tcagcccggg 6420
cggccgtggg agcccgcctc gatatgtaca agcatgggga ctgcgccgcg actagcggct 6480
tcccgcacag ccgtactgac cagcagatca gcgataaacg ctgtttctgc tggttaagtg 6540
gataaaaacc aaataatcga tgaacctcga agtggagtat ccgagctgaa ctagctggat 6600
ttactccgaa aatacgagcg gcgacgaagg gtgttgacc accctgccgc cgccttcgag 6660
gtcctactt gactaggacc ccgctcggtt tgaccagcgt aagtgtgaa cacctttccg 6720
gcaaagaccg gccccctgtc ctcggtgtcgt ccgataagcg cggcatccgg cacgaacttc 6780
gacccaaact tcaacaaatc accacgtcag aaacttttaa tgcgtgcggc cggccgattt 6840
ccggcgtgaa cgggtgtgacc atcgtcaacg gtcccaaagg ttccggattt ggaggccttc 6900
gtcctgcgg aaagggctgg atctgccccct gctgtgcggg aaaagtcggc gcacatcgag 6960
cagacgaaat ttctcaagtt gttgctcatc aactcgggac tggatctgtt gcgatggtga 7020
ccatgaccat gcgccatacc gctgggcagc gtttgcatga tttgtggact ggactttcgg 7080
cagcctggaa agctgcgacc aatggccgcc gatggcgtac cgaacgtgaa atgtacggct 7140
gcgacggata cgtacgagct gttgaaatca ctcacggaaa aaacggttgg cacgttcacg 7200
tccagctct actcatgttc agcgggtgac tgagtgagaa catcctcgaa tccttctcgg 7260
atgcgatgtt cgatcgggtg acctccaaac tcgtgtctct gggatttgct gcgccactac 7320
gtaattcagg tggactcgac gtaagaaaga ttggtggaga agctgaccaa gttctcgtg 7380
catacctgac gaaaattgca tccgggggtcg gcatggaagt cggcagtggc gacggaaaaa 7440
gtggtcggca cggcaaccgt gcaccttggg aaatcgccgt tgatgcagtc ggaggagatc 7500

cacaagcggtt ggaactctgg cgcgagtttg agttcgggtc gatgggacgc cgagcaatcg 7560
catggtctcg tggactgcgc gcccgagctg gtcttggcgt agaactcacg gatgctcaga 7620
ttgtcgaaca ggaagaatct gccccgggtca tggttgcgat cattccggct cggtcctgga 7680
tgatgattcg gaactgtgcg ccttacgttt tcggagagat ccttggactc gtggaagcgg 7740
gcgcgacctg ggaaaacctt cgtgaccact tgcattatcg attgcctgca gcggatgtgc 7800
ggcctccgat aatatcgatt cgtaagtga atgtcttggt gtgcaacaac tttcactcgt 7860
atgaaccaca cttgagggca tcccccgat acttgccgct ttgaagctgg gtgtctctct 7920
gtcagggtcg cgatagcacc gcgtagcggc ttggccttga cagagagacg gcctgtttca 7980
tggttgggtct cggggggctg accgggcaga tagaaaaagg ccggccgatt tggctgccga 8040
ctatTTTTTgc aggtaaacct atctcatgag catcaatgaa cgtcccgttg gtatcgcagc 8100
gaatgcagct tcggtagacg tcgatggcgt tgtgatgggt gtgtatctct cgctttatgg 8160
gcaagaaatc acgctagatc gagatgatgc gttcctactc ctcgatcgac ttcaggacgc 8220
gttgcgacct caagccaact aagaaccctc cagatgggtc aaacgaggcg caaactcgct 8280
cctgggcctg cgggcgggagc accgaagcgc gagcgaagcg gagcgcgtag gtggggggagc 8340
ctgcgggcag cggcggcgga gccgccgcct tggtaatagg tgatcatcgg ggccatagca 8400
ggtcagagga tgTTTTTtacg atgactcatg ctcaccacgc caagtactga tg 8452

<210> 98

<211> 8456

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pTip-RC2

<400> 98

gttaacgacc gcgcgggtcc cggacgggga agagcgggga gctttgccag agagcgacga 60
cttccccttg cgttggatgat tgccggtcag ggcagccatc cgccatcgtc gcgtaggggtg 120
tcacacccca ggaatcgct cactgaacac agcagccggt aggacgacca tgactgagtt 180
ggacaccatc gcaaattcgt ccgatcccgc ggtgcagcgg atcatcgatg tcaccaagcc 240

gtcacgatcc aacataaaga caacgttgat cgaggacgtc gagcccctca tgcacagcat 300
cgcgggccggg gtggagttca tcgaggtcta cggcagcgac agcagtcctt ttccatctga 360
gttgctggat ctgtgcgggc ggcagaacat accggtccgc ctcacgact cctcgatcgt 420
caaccagttg ttcaaggggg agcggaaggc caagacattc ggcatcgccc gcgtccctcg 480
cccggccagg ttcggcgata tcgcgagccg gcgtggggac gtcgtcgttc tcgacgggg 540
gaagatcgtc gggaacatcg gcgcgatagt acgcacgtcg ctgcgcgtcg gagcgtcggg 600
gatcatcctg gtggacagtg acatcaccag catcgcgac cggcgtctcc aaagggccag 660
ccgaggttac gtcttctccc ttcccgtcgt tctctccggt cgcgaggagg ccatcgcctt 720
cattcggggac agcggtatgc agctgatgac gctcaaggcg gatggcgaca tttccgtgaa 780
ggaactcggg gacaatccgg atcggctggc cttgctgttc ggcagcgaaa aggggtgggc 840
ttccgacctg ttcgaggagg cgtcttccgc ctcggtttcc atcccatga tgagccagac 900
cgagtctctc aacgtttccg tttccctcgg aatcgcgctg cacgagagga tcgacaggaa 960
tctcgcggcc aaccgataag cgcctctgtt cctcggacgc tcggttcctc gacctcgatt 1020
cgtcagtgat gatcacctca caccggcagcg atcaccactg acatatcgag gtcaacggtc 1080
gtggtccggg cgggcactcc tcgaaggcgc ggccgacgcc cttgaacgac tcgatgactc 1140
tagacgcata cgaaacctcc accccactca cctagtccga catccgtacc ttggaaaccg 1200
acctgtattg gcatttcagt tggacatcga ccagtggcgt tgctaggttc aagaccatgt 1260
ccagcccga ggcgtccaga ctctagccac cggaggtagt ccggtggcca catcccgtcg 1320
cgcccgaacg tcacgctctt gtgtggcctt cccttggtgt ttgcgatcag tggcacacct 1380
ctaccgtctg aatttcgagt ctggcctcgg ctgcgcacat ctgcactgt gacgctgtca 1440
ggtcaccgc ttcgcggcta ccagttcctt tcacgaatc gagcttcggg tgccgccgcg 1500
cagcctccct gaccatcctc agattttatg gagtctcgca gtgcctttcg ctatctacgt 1560
cctcgggctt gctgtcttcg cccagggcac atccgagttc atgttgctcg gactcatacc 1620
ggacatggcc cgtgacctcg gggtttcggg ccccgccgcc ggactcctca cctccgcctt 1680
cgcggtcggg atgatcatcg gcgctccgtt gatggctatc gccagcatgc ggtggccccg 1740
gcgacgcgc cttctgacat tcctcatcac gttcatgctg gtccacgtca tcggcgcgct 1800
caccagcagc ttcgaggtct tgctggtcac acgcatcgtg ggagccctcg ccaatgccgg 1860
attcttggca gtggccctgg gggcgggcgat ggcgatggtg cccgccgaca tgaaagggcg 1920
cgccacgtcc gtcctcctcg gcggtgtcac gatcgcatgt gtagccggtg ttcccggggg 1980
cgccttcctg ggtgaaatgt ggggctggcg tgcagcgttc tgggctgtcg tcgtcatctc 2040

cgccccctgca gtggtggcga ttatgttcgc cccccggcc gagccgcttg cagagtccac 2100
accgaatgcc aagcgtgaac tgtcctcact gcgctcacgc aagctccagc tcatgcttgt 2160
cctcggggcg ctgatcaacg gcgcaacgtt ctgttcgttc acgtacatgg cgcccacgct 2220
caccgacatc tccggtttcg actcccgttg gattccgttg ctgctggggc tgttcgggct 2280
cggatcgttc atcgggtgtca gcgtcggagg caggctcgcc gacacccggc cgttccaact 2340
gctcgtgtc ggggtccgcag cactgttgac gggatggatc gtcttcgctc tcacggcatc 2400
ccaccccgcg gtgacattgg tgatgctgtt cgtgcagggc gctttgtcct tcgcggtcgg 2460
ctcgactttg atctcccagg tgctctacgc cgccgacgcg gcaccgacct tgggtggatc 2520
gttcgcgacg gccgcgttca acgtcgggtg tgcaactgga ccggcgctcg gcgggttggc 2580
gatcggcatg ggtctgagct accgcgcccc gctctggacg agcgccgcgc tggtgacact 2640
cgcgatcgtc atcgggcgcag ccaccttgtc tctgtggcgg cgaccagcgt ctgtccacga 2700
atctgtcccc gcctgaccag aaaccaggat ctgtgagtgt ggtgactgat ctgtgcacgc 2760
tcagcagtca ccgcgcgctc gcgtcgtacc gagggccagc gccaacaggt gtgtggagct 2820
ctgccccctg ctctttcacg cgaactcact gttcagtgcg gcgatacgtg ctcggtgagt 2880
tccactacag cgaccatgac tagaattgat ctctcgcacc gccaatggg catctgagaa 2940
tcatctgcgt ttctcgcacg caacgtactt gcaacgttgc aactcctagt gttgtgaatc 3000
acaccccacc ggggggtggg attgcagtca ccgatttggg ggggtgcgcc aggaagatca 3060
cgtttacata ggagcttgca atgagctact ccgtgggaca ggtggccggc ttcgccggag 3120
tgacggtgcg cacgctgcac cactacgacg acatcggcct gctcgtaccg agcgagcgca 3180
gccacgcggg ccaccggcgc tacagcgacg ccgacctga ccggctgcag cagatcctgt 3240
tctaccggga gctgggcttc ccgctcgacg aggtcgccgc cctgctcgac gaccggccg 3300
cggacccgcg cgcgcacctg cgccgccagc acgagctgct gtccgcccgg atcgggaaac 3360
tgcagaagat ggcggcggcc gtggagcagg cgatggaggc acgcagcatg ggaatcaacc 3420
tcaccccgga ggagaagttc gaggtcttcg gcgacttcga ccccgaccag tacgaggagg 3480
aggtccggga acgctggggg aacaccgacg cctaccgcca gtccaaggag aagaccgcct 3540
cgtaaccaa ggaggactgg cagcgcaccc aggacgaggc cgacgagctc accggcgct 3600
tcgtcgccct gatggacgcg ggtgagcccg ccgactccga gggggcgatg gacgccgccg 3660
aggaccaccg gcagggcatc gcccgaacc actacgactg cgggtacgag atgcacacct 3720
gcctgggcga gatgtacgtg tccgacgaac gtttcacgcg aaacatcgac gccccaagc 3780
cgggcctcgc cgcctacatg cgcgacgca tcctcgccaa cgccgtccgg cacacccct 3840

gagcgggtggt cgtggcccgg gtctcccgcc cggctctacc ccacggctca ctcccggggc 3900
acgaccaccg ccgtcccgta cgcgcacacc tcggtgcccga cgtccgcccgc ctccgtcacg 3960
tcgaaacgga agatccccgg gtaccgagct cgtcaggtgg cacttttcgg ggaaatgtgc 4020
gcggaacccc tatttgttta tttttctaaa tacattcaaa tatgtatccg ctcatgagac 4080
aataaccctg ataaatgctt caataatatt gaaaaaggaa gagtatgagt attcaacatt 4140
tccgtgtcgc ccttattccc ttttttgcgg cattttgcct tcctgttttt gctcaccag 4200
aaacgctggt gaaagtaaaa gatgctgaag atcagttggg tgcacgagtg gggtacatcg 4260
aactggatct caacagcggg aagatccttg agagttttcg ccccgaaaga cgttttccaa 4320
tgatgagcac ttttaaagtt ctgctatgtg gcgcggtatt atcccgtatt gacgccgggc 4380
aagagcaact cggtcgcccgc atacactatt ctcagaatga cttgggtgag tactcaccag 4440
tcacagaaaa gcatcttacg gatggcatga cagtaagaga attatgcagt gctgccataa 4500
ccatgagtga taacactgcg gccaaacttac ttctgacaac gatcggagga ccgaaggagc 4560
taaccgcttt tttgcacaac atgggggatac atgtaactcg ccttgatcgt tgggaaccgg 4620
agctgaatga agccatacca aacgacgagc gtgacaccac gatgcctgta gcaatggcaa 4680
caacgttgcg caaactatta actggcgaac tacttactct agcttcccgg caacaattaa 4740
tagactggat ggaggcggat aaagttgcag gaccacttct gcgctcggcc cttccggctg 4800
gctggtttat tgctgataaa tctggagccg gtgagcgtgg gtctcgcggg atcattgcag 4860
cactggggcc agatggtaag ccctcccgtat tcgtagttat ctacacgacg gggagtcagg 4920
caactatgga tgaacgaaat agacagatcg ctgagatagg tgcctcactg attaagcatt 4980
ggtaactgtc agaccaagtt tactcatata tacttttagat tgatttataaa cttcattttt 5040
aatttaaaag gatctaggtg aagatccttt ttgataatct catgaccaa atcccttaac 5100
gtgagttttc gttccactga gcgtcagacc ccgtagaaaa gatcaaagga tcttcttgag 5160
atcctttttt tctgcgcgta atctgctgct tgcaaacaaa aaaaccaccg ctaccagcgg 5220
tggtttgttt gccggatcaa gagctaccaa ctctttttcc gaaggtaact ggcttcagca 5280
gagcgcagat accaaatact gttcttctag tgtagccgta gttaggccac cacttcaaga 5340
actctgtagc accgcctaca tacctcgctc tgctaatacct gttaccagtg gctgctgcca 5400
gtggcgataa gtcgtgtctt accgggttgg actcaagacg atagttaccg gataaggcgc 5460
agcggtcggg ctgaacgggg gggttcgtgca cacagcccag cttggagcga acgacctaca 5520
ccgaactgag atacctacag cgtgagctat gagaaagcgc cacgcttccc gaaggagaaa 5580
aggcggacag gtatccggta agcggcaggg tcggaacagg agagcgcacg agggagcttc 5640

cagggggaaa cgcttggtat ctttatagtc ctgtcgggtt tcgccacctc tgacttgagc 5700
gtcgattttt gtgatgctcg tcaggggggc ggagcctatg gaaaaacgcc agcaacgcgg 5760
cctttttacg gttcctggcc ttttgctggc cttttgctca catgttcttt cctgcgttat 5820
cccctgattc tgttgataac cgtattaccg cttttgagtg agctgatacc gctcgccgca 5880
gccgaacgac cgagcgcagc gagtcagtga gcgaggaagc ggaagagcgc ccaatacgca 5940
aaccgcctct ccccgcgctg tggccgattc attaatgcag ctggcacgac tagagtcccg 6000
ctgaggcggc gtagcaggtc agccgcccc a gcggtggtca ccaaccgggg tggaacggcg 6060
ccggtatcgg gtgtgtccgt ggcgctcatt ccaacctccg tgtgtttgtg caggtttcgc 6120
gtgttgcaagt ccctcgcacc ggcacccgca gcgaggggct cacgggtgcc ggtgggtcga 6180
ctagttcagt gatggtgatg gtgatgctcg agagatctaa gcttggatcc gcggccgcta 6240
cgtagaattc ccatggcgtg atggtgatgg tgatggccca tatgtatatc tccttcttaa 6300
agttaaacia aattatttct agacgccgtc cacgctgcct cctcacgtga cgtgaggtgc 6360
aagcccgga cgttcgcgtg ccacgccgtg agccgccgcg tgccgtcggc tccctcagcc 6420
cgggcggccg tgggagcccg cctcgatatg tacaagcatg gggactcgcc gcggactagc 6480
ggcttcccga cacgccgtac tgaccagcag atcagcgata aacgctgttt ctgctggtta 6540
agtggataaa aaccaaataa tcgatgaacc tcgaagtga gtatccgagc tgaactagct 6600
ggatttactc cgaaaatacg agcggcgacg aagggtgttg gaccaccctg ccgccgcctt 6660
cgaggctcct acttgactag gaccccgctc gttatgacca gcgtaagtgc tgaacacctt 6720
tccggcaaag accggccccc tgtcctcgtg tcgtccgata agcgcggcat ccggcacgaa 6780
cttcgacca aacttcaaca aatcaccag tcagaaactt ttaatgcgtg cggccggccg 6840
atttcggcg tgaacgggtg gaccatcgtc aacggtcca aagggtccgg atttgaggc 6900
cttcgctcct gcggaaagg ctggatctgc ccctgctgtg cgggaaaagt cggcgcacat 6960
cgagcagacg aaatttctca agttgttgct catcaactcg ggactggatc tgttgcgatg 7020
gtgaccatga ccatgcgcca tacgctggg cagcgtttgc atgatttgtg gactggactt 7080
tcggcagcct ggaaagctgc gaccaatggc cgccgatggc gtaccgaac tgaaatgtac 7140
ggctgcgacg gatacgtacg agctgttgaa atcactcacg gaaaaaacgg ttggcacgtt 7200
cacgtccacg ctctactcat gttcagcggg gacgtgagtg agaacatcct cgaatcctt 7260
tcggatgcga tgttcgatcg gtggacctcc aaactcgtgt ctctgggatt tgctgcgcca 7320
ctacgtaatt cagggtggact cgacgtaaga aagattggtg gagaagctga ccaagttctc 7380
gctgcatacc tgacgaaaat tgcacccggg gtcggcatgg aagtcggcag tggcgacgga 7440

aaaagtggtc ggcacggcaa ccgtgcacct tgggaaatcg ccgttgatgc agtcggagga 7500
gatccacaag cgttggaact ctggcgcgag tttgagttcg gttcgatggg acgccgagca 7560
atcgcatggt ctctgttgact gcgcgcccga gctggtcttg gcgtagaact cacggatgct 7620
cagattgtcg aacaggaaga atctgccccg gtcattggtt cgatcattcc ggctcgggtcc 7680
tggatgatga ttcggaactg tgcgccttac gttttcggag agatccttgg actcgtggaa 7740
gcgggcgcga cctgggaaaa ccttcgtgac cacttgcatt atcgattgcc tgcagcggat 7800
gtgcggcctc cgataatatc gattcgtaag tgaaatgtct tgggtgtgcaa caactttcac 7860
tcgtatgaac cacacttgag ggcatcccc cgatacttgc cgctttgaag ctgggtgtct 7920
ctctgtcagg gctgcgatag caccgcgtag cggttggcc ttgacagaga gacggcctgt 7980
ttcatggttg gtctcggggg gctgaccggg cagatagaaa aaggccggcc gatttggctg 8040
ccgactatct ttgcaggtaa acccatctca tgagcatcaa tgaacgtccc gttggtatcg 8100
cagcgaatgc agcttcggta gacgtcgatg gcgttgtgat ggggtgtgtat ctctcgcttt 8160
atgggcaaga aatcacgcta gatcgagatg atgcgttcct actcctcgat cgacttcagg 8220
acgcgttgcg acctcaagcc aactaagaac cctccagatg gtctaaacga ggcgcaaact 8280
cgctcctggg cctgcggggc gagcaccgaa gcgcgagcga agcggagcgc gtaggtgggg 8340
gagcctgcgg gcagcggcgg cggagccgcc gccttggtaa taggtgatca tcggggccat 8400
agcaggtcag aggatgtttt tacgatgact catgctcacc acgccaagta ctgatg 8456

<210> 99

<211> 5984

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-QT1

<400> 99

gttaactaga gtaacgggct actccgttta acggaccccc ttctcacgct ttaggcttga 60
ccccggagcc tgcattggggc attccgccgt gaaccgggtg gaatgcccc ggcacccggg 120
ctttccagca aagatcacct ggccgccgat agtaaggcgt acagaaccac tccacaggag 180

gaccgtcgag atgaaatcta acaatgcgct catcgtcac ctcggcaccg tcaccctgga 240
tgctgtaggc ataggcttgg ttatgccggt actgccgggc ctcttgcggg atatcgtcca 300
ttccgacagc atcgccagtc actatggcgt gctgctagcg ctatatgcgt tgatgcaatt 360
tctatgcgca cccgttctcg gagcactgtc cgaccgcttt ggccgcccgc cagtcctgct 420
cgcttcgcta cttggagcca ctatcgacta cgcgatcatg gcgaccacac ccgtcctgtg 480
gattctctac gccggacgca tcgtggccgg catcaccggc gccacaggtg cggttgcttg 540
cgcctatata gccgacatca ccgatgggga agatcgggct cgccacttcg ggctcatgag 600
cgcttgtttc ggcggtggga tgggtggcagg ccccggtggc gggggactgt tgggcgccat 660
ctccttgcat gcaccattcc ttgcggcggc ggtgctcaac ggccctcaacc tactactggg 720
ctgcttccta atgcaggagt cgcataaggg agagcgtcgt ccgatgccct tgagagcctt 780
caaccagtc agctccttcc ggtgggcgcg gggcatgact atcgtcgccg cacttatgac 840
tgtcttcttt atcatgcaac tcgtaggaca ggtgccggca gcgctctggg tcattttcgg 900
cgaggaccgc tttcgctgga gcgcgacgat gatcggcctg tcgcttgcgg tattcggaat 960
cttgcaagcc ctcgctcaag ccttcgtcac tggccccgc accaaacgtt tcggcgagaa 1020
gcaggccatt atcgccggca tggcgccga cgcgctgggc tacgtcttgc tggcgttcgc 1080
gacgcgaggc tggatggcct tccccattat gattcttctc gcttcggcg gcacgggat 1140
gcccgcgttg caggccatgc tgtccaggca ggtagatgac gaccatcagg gacagcttca 1200
aggatcgctc gcggctctta ccagcctaac ttcgatcatt ggaccgctga tcgtcacggc 1260
gatttatgcc gcctcggcga gcacatggaa cgggttgga tggattgtag gcgccgccct 1320
ataccttgtc tgctccccg cgttgcgctc cggtgcatgg agccgggcca cctcgacctg 1380
aatggaagcc ggcggcacct cgctaacgga ttcaccactc caagaattgg agccaatcaa 1440
ttcttgcgga gaactgtgaa tgcgcaaacc aacccttggc agaacatata catcgctcc 1500
gccatctcca gcagccgcac gcggcgcatc tcgggcagcg ttgggtcctg gccacgggtg 1560
cgcatgatcg tgctcctgtc gttgaggta cagagctcgtc aggtggcact ttcggggaa 1620
atgtgcgcg aaccctatt tgtttatitt tctaaataca ttcaaataatg tatccgctca 1680
tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc 1740
aacatttccg tgctgccctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct gttttgtc 1800
accagaaac gctgggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt 1860
acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt 1920
ttccaatgat gagcactttt aaagtctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg 1980

ccgggcaaga gcaactcggg cgccgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact 2040
caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgctg 2100
ccataaccat gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga 2160
aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg 2220
aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa 2280
tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac 2340
aattaataga ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc 2400
cggctggctg gtttattgct gataaatctg gagccgggtga gcgtgggtct cgcggtatca 2460
ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga 2520
gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tcaactgatta 2580
agcattggta actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc 2640
atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc 2700
cttaacgtga gttttcgttc cactgagcgt cagaccccggt agaaaagatc aaaggatctt 2760
cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgtac 2820
cagcgggtgt ttgtttgccc gatcaagagc taccaactct tttccgaag gtaactggct 2880
tcagcagagc gcagatacca aatactgttc ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact 2940
tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg 3000
ctgccagtgg cgataagtgc tgtcttacog ggttggactc aagacgatag ttaccggata 3060
aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggt cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga 3120
cctacaccga actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag 3180
ggagaaaggc ggacaggtat ccggtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg 3240
agcttccagg gggaaacgcc tggatatctt atagtccctgt cgggtttcgc cacctctgac 3300
ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca 3360
acgcggcctt tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg 3420
cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagttagct gataccgctc 3480
gccgcagccg aacgaccgag cgcagcgagt cagttagcga ggaagcggaa gagcgcccaa 3540
tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcagctgg cacgactaga 3600
gtcccgtga ggcggttag caggtcagcc gcccagcgg tggtcaccaa ccgggggtgga 3660
acggcgcgg tatcgggtgt gtccgtggcg ctattccaa cctccgtgtg tttgtgcagg 3720
tttcgcgtgt tgtagtcctt cgcaccggca cccgcagcga ggggctcacg ggtgccgggtg 3780

ggtcgactag ttcagtgatg gtgatggtga tgctcgagag atctaagctt ggatccgcgg 3840
ccgctacgta gaattcccat atggtgatgg tgatggtggc ccatggtata tctccttctt 3900
aaagttaaac aaaattatctt ctagacgccg tccattatac ctcttcacgt gacgtgaggt 3960
gcaagcccgg acgttccgcg tgccacgccg tgagccgccg cgtgccgtcg gctccctcag 4020
cccggggcggc cgtggggagcc cgctcgcata tgtacaccgc agaagctccc agcgtcctcc 4080
tgggcccgcga tactcgacca ccacgcacgc acaccgcact aacgattcgg ccggcgctcg 4140
attcggccgg cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc ggcgctcgat tcggccggcg 4200
ctcgattcgg ccgagcagaa gagtgaacaa ccaccgacca cgcttcgcgt ctgcgcgccg 4260
taccgcacct acctcccgca gctcgaagca gctcccgga gtaccgccgt actcaccgc 4320
ctgtgctcac catccaccga cgaaagccc aaccgcagca cacctcttgc accaaggtgc 4380
cgaccgtggc tttccgctcg cagggttcca gaagaaatcg aacgatccag cgcggcaagg 4440
ttcaaaaagc aggggttggg ggggaggagg ttttgggggg tgctgccggg atacctgata 4500
tggttttggg ttgcgtagtc gaataatctt ccatatagcc tcggcgcgtc ggactcgaat 4560
agttgatgtg ggccgggcaca gttgccccat gaaatccgca acggggggcg tgctgagcga 4620
tcggcaatgg gcggatgcgg tgttgcttcc gcaccggccg ttcgcgacga acaacctcca 4680
acgaggtcag taccggatga gccgcgacga cgcattggca atgcggtacg tcgagcattc 4740
accgcacgcg ttgctcggat ctatcgtcat cgactgcgat cacgttgacg ccgcgatgcg 4800
cgcatcagag caaccatccg accatccggc gccgaactgg gtcgcacaat cgccgtccgg 4860
ccgcgcacac atcggatggg ggctcggccc caaccacgtg tgccgcaccg acagcgcccg 4920
actgacgcca ctgcgctacg cccaccgcct cgaaaccggc ctcaagatca gcgtcggcgg 4980
cgatttcgcg tatggcgggc aactgaccaa aaacccgatt caccocgatt gggagacgat 5040
ctacggcccg gccaccccggt acacattgcg gcagctggcc accatccaca caccocggca 5100
gatgccgcgt cggcccgatc gggccgtggg cctggggccg aacgtcacca tggtcgacgc 5160
caccocggca tgggcatacc cgcagtgggt gcaacaccga aacggaaccg gccgcgactg 5220
ggaccatctc gtctcgcagc actgccacgc cgtcaacacc gagttcacga caccactgcc 5280
gttcaccgaa gtacgcgcca ccgcgcaatc catctccaaa tggatctggc gcaatttcac 5340
cgaagaacag taccgagccc gacaagcgca tctcgggtcaa aaaggcggca aggcaacgac 5400
actcgccaaa caagaagccg tccgaaacaa tgcaagaaag tacgacgaac atacgatgcg 5460
agaggcgatt atctgatggg cggagccaaa aatccgggtg gccgaaagat gacggcagca 5520
gcagcagccg aaaaattcgg tgcctccact cgcacaatcc aacgcttggt tgctgagccg 5580

cgtgacgatt acctcggccg tgcgaaagct cgccgtgaca aagctgtcga gctgcggaag 5640
 caggggttga agtaccggga aatcgccgaa gcgatggaac tctcgaccgg gatcgtcggc 5700
 cgattactgc acgacgcccg caggcacggc gagatttcag cggaggatct gtcggcgtaa 5760
 ccaagtcagc gggttgtcgg gttccggccg gcgctcggca ctcgaccgg cggcgcatg 5820
 gtgttctgcc tctggcgag cgtcagctac cgccgaaggc ctgtcatcga ccggcttcga 5880
 ctgaagtatg agcaacgtca cagcctgtga ttggatgatc cgctcacgct cgaccgctac 5940
 ctgttcagct gccgcccgt gggcatgagc aacggccaac tctc 5984

<210> 100

<211> 5988

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-QT2

<400> 100

gttaactaga gtaacgggct actccgttta acggaccccg ttctcacgct ttaggcttga 60
 ccccgagacc tgcattggggc attccgccgt gaaccgggtg gaatgcccc ggcacccggg 120
 ctttccagca aagatcacct ggcgccgatg agtaaggcgt acagaaccac tccacaggag 180
 gaccgtcgag atgaaatcta acaatgcgct catcgctatc ctgggcaccg tcaccctgga 240
 tgctgtaggc ataggcttgg ttatgccggt actgccgggc ctcttgctggg atatcgtcca 300
 ttccgacagc atcgccagtc actatggcgt gctgctagcg ctatatgcgt tgatgcaatt 360
 tctatgcgca cccgttctcg gagcactgtc cgaccgcttt ggccgcccgc cagtcctgct 420
 cgcttcgcta cttggagcca ctatcgacta cgcgatcatg gcgaccacac ccgtcctgtg 480
 gattctctac gccggacgca tcgtggccgg catcacggc gccacagggt cggttgctgg 540
 cgcctatatc gccgacatca ccgatgggga agatcgggct cgccacttcg ggctcatgag 600
 cgcttgcttc ggctgggta tgggtggcagg ccccgctggc gggggactgt tgggcgcat 660
 ctcttgcat gcaccattcc ttgcggcggc ggtgctcaac ggctcaacc tactactggg 720
 ctgcttccta atgcaggagt cgcataaggg agagcgtcgt ccgatgccct tgagagcctt 780
 caaccagtc agctccttcc ggtgggcgcg gggcatgact atcgtcgccg cacttatgac 840

tgtcttcttt atcatgcaac tcgtaggaca ggtgccggca gcgctctggg tcattttcgg 900
cgaggaccgc ttctgctgga gcgcgacgat gatcggcctg tcgcttgagg tattcggaat 960
cttgcaagcc ctctgctcaag ccttcgtcac tgggtcccgcc accaaacgtt tcggcgagaa 1020
gcaggccatt atcgccggca tggcggccga cgcgctgggc tacgtcttgc tggcgttcgc 1080
gacgcgaggc tggatggcct tccccattat gattcttctc gcttcgggcg gcatcgggat 1140
gccccggttg caggccatgc tgtccaggca ggtagatgac gaccatcagg gacagcttca 1200
aggatcgctc gcggctctta ccagcctaac ttcgatcatt ggaccgctga tcgtcacggc 1260
gatttatgcc gcctcggcga gcacatggaa cgggttggca tggattgtag gcgccgccct 1320
ataccttgte tgcctccccg cgttgcgctc cgggtgcatg agccgggcca cctcgacctg 1380
aatggaagcc ggccggcacct cgctaacgga ttcaccactc caagaattgg agccaatcaa 1440
ttcttgcgga gaactgtgaa tgcgcaaacc aacccttggc agaacatata catcgcgctc 1500
gccatctcca gcagccgcac gcggcgcata tcgggcagcg ttgggtcctg gccacgggtg 1560
cgcatgatcg tgctcctgtc gttgaggtac cgagctcgtc aggtggcact tttcggggaa 1620
atgtgcgagg aacctctatt tgtttatttt tctaaataca ttcaaataatg tatccgctca 1680
tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc 1740
aacatttccg tgctcgccctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc 1800
accagaaac gctgggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt 1860
acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt 1920
ttccaatgat gagcactttt aaagtctctg tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg 1980
ccgggcaaga gcaactcggt cgccgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact 2040
caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgtctg 2100
ccataacat gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgata ggaggaccga 2160
aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg 2220
aaccggagct gaatgaagcc ataccaaagc acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa 2280
tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tccoggcaac 2340
aattaataga ctggatggag gcggataaag ttgcaggacg acttctgcgc tcggcccttc 2400
cggctggctg gtttattgct gataaatctg gagccgggtga gcgtgggtct cgcggtatca 2460
ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga 2520
gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tcaactgatta 2580
agcattggta actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc 2640

atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc 2700
cttaacgtga gttttcgttc cactgagcgt cagaccccggt agaaaagatc aaaggatcctt 2760
cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatat gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgctac 2820
cagcgggtggt ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttcgaag gtaactggct 2880
tcagcagagc gcagatacca aatactgttc ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact 2940
tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg 3000
ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg ggttggactc aagacgatag ttaccggata 3060
aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggt cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga 3120
cctacaccga actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag 3180
ggagaaaggc ggacaggtat ccggttaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg 3240
agcttccagg gggaaacgcc tggatatctt atagtctgt cgggtttcgc cacctctgac 3300
ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca 3360
acgcggcctt tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg 3420
cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagttagct gataccgctc 3480
gccgcagccg aacgaccgag cgcagcgagt cagttagcga ggaagcggaa gagcgcccaa 3540
tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcagctgg cacgactaga 3600
gtcccgtgta ggccggcgtag caggtcagcc gcccagcgg tggtcaccaa ccgggggtgga 3660
acggcgccgg tatcgggtgt gtccgtggcg ctcatccaa cctccgtgtg tttgtgcagg 3720
tttcgcgtgt tgcagtccct cgcaccggca cccgcagcga ggggctcacg ggtgccggtg 3780
ggtcgactag ttcagtgtat gtgatgggtg tgctcgagag atctaagctt ggatccgcgg 3840
ccgctacgta gaattcccat ggcgtagtgg tgatgggtgat ggcccatatg tatactctct 3900
tcttaaagtt aaacaaaatt atttctagac gccgtccatt atacctctc acgtgacgtg 3960
aggtgcaagc ccggacgttc cgcgtgccac gccgtgagcc gccgcgtgcc gtcggctccc 4020
tcagcccggg cggccgtggg agcccgcctc gatatgtaca cccgagaagc tcccagcgtc 4080
ctcctgggcc gcgatactcg accaccacgc acgcacaccg cactaacgat tcggccggcg 4140
ctcgattcgg ccggcgctcg attcggccgg cgctcgattc ggccggcgct cgattcggcc 4200
ggcgctcgat tcggccgagc agaagagtga acaaccaccg accacgcttc cgctctgcgc 4260
gccgtacccg acctacctcc cgcagctcga agcagctccc gggagtaccg ccgtactcac 4320
ccgcctgtgc tcaccatcca ccgacgcaaa gcccaaccg agcacacctc ttgcaccaag 4380
gtgccgaccg tggctttccg ctgcgagggt tccagaagaa atcgaacgat ccagcgcggc 4440

aaggttcaaa aagcaggggt tgggtggggag gaggttttgg ggggtgtcgc cgggatacct 4500
gatatggctt tgttttgcgt agtcgaataa ttttccatat agcctcggcg cgtcggactc 4560
gaatagttga tgtgggcggg cacagttgcc ccatgaaatc cgcaacgggg ggcgtgctga 4620
gcgatcggca atgggcggat gcggtgttgc ttccgcaccg gccgttcgcg acgaacaacc 4680
tccaacgagg tcagtaccgg atgagccgcg acgacgcatt ggcaatgcgg tacgtcgagc 4740
attcaccgca cgcgttgctc ggatctatcg tcatcgactg cgatcacgtt gacgccgcga 4800
tgcgcgcatt cgagcaacca tccgaccatc cggcgccgaa ctgggtcgca caatcgccgt 4860
ccggccgcgc acacatcgga tgggtggctcg gcccacaacca cgtgtgccgc accgacagcg 4920
cccgactgac gccactgcgc tacgccacc gcacgaaac cggcctcaag atcagcgtcg 4980
gcggcgatth cgcgtatggc gggcaactga caaaaaacc gattcacccc gattgggaga 5040
cgatctacgg cccggccacc ccgtacacat tgcggcagct ggccaccatc cacacacccc 5100
ggcagatgcc gcgtcggccc gatcgggccc tgggcctggg ccgcaacgtc accatgttcg 5160
acgccacccg gcgatgggca taccgcagt ggtggcaaca ccgaaacgga accggccgcg 5220
actgggacca tctcgtcctg cagcactgcc acgccgtcaa caccgagttc acgacaccac 5280
tgccgttcac cgaagtacgc gccaccgcgc aatccatctc caaatggatc tggcgcaatt 5340
tcaccgaaga acagtaccga gcccgacaag cgcattctcg tcaaaaaggc ggcaaggcaa 5400
cgacactcgc caaacaagaa gccgtccgaa acaatgcaag aaagtacgac gaacatacga 5460
tgcgagaggc gattatctga tgggcggagc caaaaatccg gtgcgccgaa agatgacggc 5520
agcagcagca gccgaaaaat tcggtgcctc cactcgcaca atccaacgct tgtttgctga 5580
gccgcgtgac gattacctcg gccgtgcgaa agctcgccgt gacaaagctg tcgagctgcg 5640
gaagcagggg ttgaagtacc gggaaatcgc cgaagcgatg gaactctcga ccgggatcgt 5700
cggccgatta ctgcacgacg cccgcaggca cggcgagatt tcagcggagg atctgtcggc 5760
gtaaccaagt cagcgggttg tcgggttccg gccggcgctc ggcaactcgga ccggccggcg 5820
gatggtgttc tgcctctggc gcagcgtcag ctaccgccga aggcctgtca tcgaccggct 5880
tcgactgaag tatgagcaac gtcacagcct gtgattggat gatccgctca cgctcgaccg 5940
ctacctgttc agctgccgcc cgctgggcat gagcaacggc caactctc 5988

<210> 101

<211> 6058

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-RT1

<400> 101

gttaactaga gtaacgggct actccgttta acggaccccg ttctcacgct ttaggcttga 60
ccccggagcc tgcattggggc attccgccgt gaaccgggtg gaatgcccc ggcacccggg 120
ctttccagca aagatcacct ggccgccgat agtaaggcgt acagaaccac tccacaggag 180
gaccgtcgag atgaaatcta acaatgcgct catcgtcatc ctccggcaccg tcaccctgga 240
tgctgtaggc ataggcttgg ttatgccggt actgccgggc ctcttgccggg atatcgtcca 300
ttccgacagc atcgccagtc actatggcgt gctgctagcg ctatatgcgt tgatgcaatt 360
tctatgcgca cccgtttctg gagcactgtc cgaccgcttt ggccgccgcc cagtcctgct 420
cgcttcgcta cttggagcca ctatcgacta cgcgatcatg gcgaccacac ccgtcctgtg 480
gattctctac gccggacgca tcgtggccgg catcacgggc gccacagggtg cggttgctgg 540
cgcctatatc gccgacatca ccgatgggga agatccgggt cgccacttcg ggctcatgag 600
cgcttgcttc ggccgtgggtg tgggtggcagg ccccgctggc gggggactgt tgggcgccat 660
ctccttgcat gcaccattcc ttgcggccgc ggtgctcaac ggctcaacc tactactggg 720
ctgcttccta atgcaggagt cgcataaggg agagcgtcgt ccgatgccct tgagagcctt 780
caaccagtc agctccttcc ggtgggcgcg gggcatgact atcgtcgccg cacttatgac 840
tgtcttcttt atcatgcaac tcgtaggaca ggtgccggca gcgctctggg tcattttcgg 900
cgaggaccgc tttcgttga gcgcgacgat gatccgcctg tcgcttgccg tattcggaat 960
cttgccagcc ctccgtcaag ccttcgtcac tgggtccgcc accaaacgtt tcggcgagaa 1020
gcaggccatt atcgccggca tggcgggcca cgcgctgggc tacgtcttgc tggcgttcgc 1080
gacgcgaggc tggatggcct tccccattat gattcttctc gcttcggcg gcacccggat 1140
gcccgcgttg caggccatgc tgtccaggca ggtagatgac gaccatcagg gacagcttca 1200
aggatcgctc gcggctctta ccagcctaac ttcgatcatt ggaccgctga tcgtcacggc 1260
gatttatgcc gcctcggcga gcacatggaa cgggttgcca tggattgtag gcgccgccct 1320
ataccttgtc tgcctccccg cgttgccgtc cgggtgatgg agccgggcca cctcgacctg 1380
aatggaagcc ggccggcacct cgctaacgga ttcaccactc caagaattgg agccaatcaa 1440
ttcttgccga gaactgtgaa tgcgcaaacc aacccttggc agaacatatc catcgcgtcc 1500

gccatctcca gcagccgcac gcggcgcatc tcgggcagcg ttgggtcctg gccacgggtg 1560
cgcatgatcg tgctcctgtc gttgaggtac cgagctcgtc aggtggcact tttcggggaa 1620
atgtgcgagg aaccctatt tgtttatatt tctaaatata ttcaaatatg tatccgtca 1680
tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc 1740
aacatttccg tgtcgccctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc 1800
accagaaac gctggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt 1860
acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt 1920
ttccaatgat gagcactttt aaagtctctg tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg 1980
ccgggcaaga gcaactcggg cgccgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact 2040
caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgtctg 2100
ccataaccat gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgatc ggaggaccga 2160
aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg 2220
aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa 2280
tggaacaac gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tccggcaac 2340
aattaataga ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc 2400
cggctggctg gtttattgct gataaatctg gagccggtga gcgtgggtct cgcggtatca 2460
ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga 2520
gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgctga gataggtgcc tcttgatta 2580
agcattggta actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc 2640
atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc 2700
cttaacgtga gttttcgctc cactgagcgt cagaccccggt agaaaagatc aaaggatctt 2760
cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaaa ccaccgctac 2820
cagcgggtgt ttgtttgccg gatcaagagc taccaactct ttttcgaag gtaactggct 2880
tcagcagagc gcagatacca aatactgttc ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact 2940
tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg 3000
ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg ggttggtgactc aagacgatag ttaccggata 3060
aggcgcagcg gtcgggctga acgggggggt cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga 3120
cctacaccga actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag 3180
ggagaaaggc ggacaggtat ccggtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg 3240
agcttccagg gggaaacgcc tggatatctt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac 3300

ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca 3360
acgcggcctt tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg 3420
cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagtgaagt gataccgctc 3480
gccgcagccg aacgaccgag cgcagcgagt cagtgaagca ggaagcggaa gagcgcccaa 3540
tacgcaaacc gcctctcccc ggcggttggc cgattcatta atgcagctgg cagcactaga 3600
gtcccgtga ggcggcgtag caggtcagcc gcccagcgg tggtcaccaa ccgggggtga 3660
acggcgccgg tatcgggtgt gtccgtggcg ctcatccaa cctccgtgtg tttgtgcagg 3720
tttcgctgtg tgcagtcctt cgcaccggca cccgcagcga ggggctcacg ggtgccggtg 3780
ggtcgactag ttcagtgatg gtgatggtga tgctcagag atctaagctt ggatccgagg 3840
ccgctacgta gaattcccat atggtgatgg tgatggtggc ccatggtata tctccttctt 3900
aaagttaaac aaaattattt ctagacgccg tccattatac ctctcacgt gacgtgaggt 3960
gcaagcccgg acgttcgcg tgccacgccg tgagccgccg cgtgccgtcg gctccctcag 4020
cccgggcggc cgtgggagcc cgcctcgata tgtacaagca tggggactcg ccgcggacta 4080
gcggcttccc gacacgccgt actgaccagc agatcagcga taaacgctgt ttctgctggt 4140
taagtggata aaaaccaa atcagatgaa cctcgaagtg gagtatccga gctgaactag 4200
ctggatttac tccgaaaata cgagcggcga cgaagggtgt tggaccacc tgccgccgcc 4260
ttcgaggctc ctacttgact aggacccgc tggttatgac cagcgtagt gctgaacacc 4320
tttcggcaa agaccggccc cctgtcctcg tgctgtccga taagcgcggc atccggcacg 4380
aacttcgacc caaacttcaa caaatcacca cgtcagaaac ttttaatgcg tgcggccggc 4440
cgatttcggc cgtgaacggt gtgaccatcg tcaacgggtc caaagggttc ggatttgagg 4500
gccttcgctc ctgcggaaag ggctggatct gcccctgctg tgcgggaaa gtcggcgcac 4560
atcgagcaga cgaaatttct caagttgttg ctcatcaact cgggactgga tctgttgca 4620
tggtgaccat gaccatgcgc cataccgctg ggcagcgttt gcatgatttg tggactggac 4680
tttcggcagc ctggaaagct gcgaccaatg gccgccgatg gcgtaccgaa cgtgaaatgt 4740
acggctgcga cggatacgta cgagctgttg aaatcactca cggaaaaaac ggttggcacg 4800
ttcacgtcca cgtctactc atgttcagcg gtgacgtgag tgagaacatc ctggaatcct 4860
tctcgatgc gatgttcgat cgggtggacct ccaaactcgt gtctctggga tttgctgcgc 4920
cactacgtaa ttcagggtga ctgcacgtaa gaaagattgg tggagaagct gaccaagttc 4980
tcgtgcata cctgacgaaa attgcatccg gggtcggcat ggaagtcggc agtggcgacg 5040
gaaaaagtgg tcggcacggc aaccgtgcac cttgggaaat cgccgttgat gcagtcggag 5100

gagatccaca agcgttggaa ctctggcgcg agtttgagtt cggttcgatg ggacgccgag 5160
caatcgcatg gtctcgtgga ctgcgcgccc gagctgggtct tggcgtagaa ctacaggatg 5220
ctcagattgt cgaacaggaa gaatctgccc cggtcattgt tgcgatcatt ccggctcggg 5280
cctggatgat gattcggaac tgtgcgcctt acgttttcgg agagatcctt ggactcgtgg 5340
aagcggggcg gacctgggaa aaccttcgtg accacttgca ttatcgattg cctgcagcgg 5400
atgtgcggcc tccgataata tcgattcgta agtgaaatgt cttgggtgtgc aacaactttc 5460
actcgtatga accacacttg agggcatccc cccgatactt gccgctttga agctgggtgt 5520
ctctctgtca gggctgcgat agcaccgcgt agcggcttgg ccttgacaga gagacggcct 5580
gtttcatggt tgggtctcggg gggctgaccg ggcagataga aaaaggccgg ccgatttggc 5640
tgccgactat ttttgcaggt aaacctatct catgagcatc aatgaacgtc ccgttggtat 5700
cgcagcgaat gcagcttcgg tagacgtcga tggcgttgtg atgggtgtgt atctctcgtc 5760
ttatgggcaa gaaatcacgc tagatcgaga tgatgcgttc ctactcctcg atcgacttca 5820
ggacgcgttg cgacctcaag ccaactaaga accctccaga tggctctaac gaggcgcaaa 5880
ctcgtccttg ggcctgcggg cggagcaccg aagcgcgagc gaagcggagc gcgtaggttg 5940
gggagcctgc gggcagcggc ggcggagccg ccgccttggt aataggtgat catcggggcc 6000
atagcaggtc agaggatggt ttacgatga ctcatgctca ccacgccaag tactgatg 6058

<210> 102

<211> 6062

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-RT2

<400> 102

gttaactaga gtaacgggct actccgttta acggaccccg ttctcacgct ttaggcttga 60
ccccggagcc tgcattggggc attccgccgt gaaccgggtg gaatgcccc ggcacccggg 120
ctttcagca aagatcacct ggcgccgatg agtaaggcgt acagaaccac tccacaggag 180
gaccgtcgag atgaaatcta acaatgcgct catcgtcatc ctcggcaccg tcaccctgga 240

tgctgtaggc ataggcttgg ttatgccggt actgccgggc ctcttgcggg atatcgtcca 300
ttccgacagc atcgccagtc actatggcgt gctgctagcg ctatatgctg tgatgcaatt 360
tctatgcgca cccgttctcg gagcactgtc cgaccgcttt ggccgcccgc cagtcctgct 420
cgcttcgcta cttggagcca ctatcgacta cgcgatcatg gcgaccacac ccgtcctgtg 480
gattctctac gccggacgca tcgtggccgg catcaccggc gccacaggtg cggttgctgg 540
cgcctatatc gccgacatca ccgatgggga agatcgggct cgccacttcg ggctcatgag 600
cgcttgtttc ggctgaggta tggtagcagg ccccgtaggc gggggactgt tgggagccat 660
ctccttgcat gcaccattcc ttgaggcggc ggtgctcaac ggcccaacc tactactggg 720
ctgcttccta atgcaggagt cgcataaggg agagcgtcgt ccgatgccct tgagagcctt 780
caaccagtc agctccttcc ggtgggcgcg gggcatgact atcgtcgccg cacttatgac 840
tgtcttcttt atcatgcaac tcgtaggaca ggtgccggca gcgctctggg tcattttcgg 900
cgaggaccgc tttcgctgga gcgcgacgat gatcggcctg tcgcttgagg tattcggaat 960
cttgcaagcc ctgcctcaag ccttcgtcac tgggtccgcc accaaacgtt tcggcgagaa 1020
gcaggccatt atcgccggca tggcgggcga cgcgctgggc tacgtcttgc tggcgttcgc 1080
gacgcgaggc tggatggcct tccccattat gattcttctc gcttcggcg gcacgaggat 1140
gcccgcgttg caggccatgc tgtccaggca ggtagatgac gaccatcagg gacagcttca 1200
aggatcgctc ggggctctta ccagcctaac ttcgatcatt ggaccgctga tcgtcacggc 1260
gatttatgcc gcctcggcga gcacatggaa cgggttgga tggattgtag gcgcgcct 1320
ataccttgct tgcctccccg cgttgctgcg cgggtgcatg agccgggcca cctcgacctg 1380
aatggaagcc ggcggcacct cgctaacgga ttcaccactc caagaattgg agccaatcaa 1440
ttcttgcgga gaactgtgaa tgcgcaaacc aacccttggc agaacatatc catcgcgctc 1500
gccatctcca gcagccgcac gcggcgcatc tcgggcagcg ttgggtcctg gccacgggtg 1560
cgcatgatcg tgctcctgtc gttgaggtag cgagctcgtc aggtggcact tttcggggaa 1620
atgtgcgcgg aaccctatt tgtttatatt tctaaataca ttcaaataatg tatccgctca 1680
tgagacaata accctgataa atgcttcaat aatattgaaa aaggaagagt atgagtattc 1740
aacatttcgc tgctgcctt attccctttt ttgcggcatt ttgccttcct gtttttgctc 1800
accagaaaac gctgggtgaaa gtaaaagatg ctgaagatca gttgggtgca cgagtgggtt 1860
acatcgaact ggatctcaac agcggtaaga tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt 1920
ttccatgat gagcactttt aaagttctgc tatgtggcgc ggtattatcc cgtattgacg 1980
ccgggcaaga gcaactcggc cgccgcatac actattctca gaatgacttg gttgagtact 2040

caccagtcac agaaaagcat cttacggatg gcatgacagt aagagaatta tgcagtgtg 2100
ccataaccat gagtgataac actgcggcca acttacttct gacaacgatac ggaggaccga 2160
aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg 2220
aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg acgagcgtga caccacgatg cctgtagcaa 2280
tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg gcgaactact tactctagct tcccggcaac 2340
aattaataga ctggatggag gcggataaag ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc 2400
cggctggctg gtttatgtg gataaatctg gagccggatga gcgtgggtct cgcggatatca 2460
ttgcagcact ggggccagat ggtaagccct cccgtatcgt agttatctac acgacgggga 2520
gtcaggcaac tatggatgaa cgaaatagac agatcgtga gatagggtgcc tcaactgatta 2580
agcattggta actgtcagac caagtttact catatatact ttagattgat ttaaaacttc 2640
atttttaatt taaaaggatc taggtgaaga tcctttttga taatctcatg accaaaatcc 2700
cttaacgtga gttttcgttc cactgagcgt cagaccccgt agaaaagatc aaaggatctt 2760
cttgagatcc tttttttctg cgcgtaatct gctgcttgca aacaaaaaaa ccaccgtac 2820
cagcgggtgt ttgtttgccc gatcaagagc taccaactct tttccgaag gtaactggct 2880
tcagcagagc gcagatacca aatactgttc ttctagtgtg gccgtagtta ggccaccact 2940
tcaagaactc tgtagcaccg cctacatacc tcgctctgct aatcctgtta ccagtggctg 3000
ctgccagtgg cgataagtcg tgtcttaccg ggttggaactc aagacgatag ttaccggata 3060
aggcgcagcg gtcgggctga acggggggtt cgtgcacaca gccagcttg gagcgaacga 3120
cctacaccga actgagatac ctacagcgtg agctatgaga aagcgccacg cttcccgaag 3180
ggagaaaggc ggacaggat cgggtaagcg gcagggtcgg aacaggagag cgcacgaggg 3240
agcttccagg gggaaacgcc tggatatctt atagtcctgt cgggtttcgc cacctctgac 3300
ttgagcgtcg atttttgtga tgctcgtcag gggggcggag cctatggaaa aacgccagca 3360
acgcggcctt tttacggttc ctggcctttt gctggccttt tgctcacatg ttctttcctg 3420
cgttatcccc tgattctgtg gataaccgta ttaccgcctt tgagttagct gataccgctc 3480
gccgcagccg aacgaccgag cgcagcagat cagttagcga ggaagcggaa gagcgcccaa 3540
tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgttggc cgattcatta atgcagctgg cacgactaga 3600
gtcccgtga ggccggcgtg caggtcagcc gcccagcgg tggtcaccaa ccgggggtgga 3660
acggcgccgg tatcgggtgt gtccgtggcg ctcatccaa cctccgtgtg tttgtgcagg 3720
tttcgcgtgt tgcagtcct cgcaccggca cccgcagcga ggggctcacg ggtgccgggtg 3780
ggtcgactag ttcagtgatg gtgatggtga tgctcagag atctaagctt ggatccgcgg 3840

ccgctacgta gaattcccat ggcgatgatg tgatggatgat ggcccatatg tatatctcct 3900
tcttaaagtt aaacaaaatt atttctagac gccgtccatt atacctcctc acgtgacgtg 3960
agggtcaagc ccggacgttc cgcgtgccac gccgtgagcc gccgcgtgcc gtcggctccc 4020
tcagcccggg cggccgtggg agcccgccctc gatatgtaca agcatgggga ctgccgcgg 4080
actagcggct tcccgacacg ccgtactgac cagcagatca gcgataaacg ctgtttctgc 4140
tggttaagtg gataaaaacc aaataatcga tgaacctcga agtggagtat ccgagctgaa 4200
ctagctggat ttactccgaa aatacgagcg gcgacgaagg gtgttgacc accctgccgc 4260
cgccttcgag gtcctactt gactaggacc ccgtcgtta tgaccagcgt aagtgtgaa 4320
cacctttccg gcaaagaccg gccccctgtc ctgctgtcgt ccgataagcg cggcatccgg 4380
cacgaacttc gacccaaact tcaacaaatc accacgtcag aaacttttaa tgcgtgcggc 4440
cggccgattt ccggcgtgaa cgggtgacc atcgtcaacg gtcccaaagg ttccggattt 4500
ggaggccttc gtcctgcgg aaagggtg atctgccct gctgtcggg aaaagtcggc 4560
gcacatcgag cagacgaaat ttctcaagtt gttgctcatc aactcgggac tggatctgtt 4620
gcgatggatga ccatgaccat gcgccatacc gctgggcagc gtttgcatga tttgtggact 4680
ggactttcgg cagcctggaa agctgcgacc aatggccgcc gatggcgtac cgaacgtgaa 4740
atgtacggct gcgacggata cgtacgagct gttgaaatca ctcacggaaa aaacggttg 4800
cacgttcacg tccacgtctt actcatgttc agcggtgacg tgagtgagaa catcctcgaa 4860
tccttctcgg atgcgatgtt cgatcgggtg acctccaaac tcgtgtctct gggatttgct 4920
gcgccactac gtaattcagg tggactcgac gtaagaaaga ttggtggaga agctgaccaa 4980
gttctcgtc catacctgac gaaaattgca tccggggctc gcatggaagt cggcagtggc 5040
gacggaaaaa gtggtcggca cggcaaccgt gcaccttggg aaatcgccgt tgatgcagtc 5100
ggaggagatc cacaagcgtt ggaactctgg cgcgagttt agttcggttc gatgggacgc 5160
cgagcaatcg catggtctcg tggactgcgc gcccgagctg gtcttggcgt agaactcacg 5220
gatgctcaga ttgtcgaaca ggaagaatct gcccggtca tggttgcgat cattccggct 5280
cggctcctgga tgatgattcg gaactgtgcg ccttacgttt tcggagagat ccttggactc 5340
gtggaagcgg gcgcgacctg ggaaaacctt cgtgaccact tgcattatcg attgcctgca 5400
gcggatgtgc ggccctccgat aatatcgatt cgtaagtga atgtcttggt gtgcaacaac 5460
tttcaactcg atgaaccaca cttgagggca tcccccgat acttgccgct ttgaagctgg 5520
gtgtctctct gtcagggtcg cgatagcacc gcgtagcggc ttggccttga cagagagacg 5580
gcctgtttca tggttggtct cggggggctg accgggcaga tagaaaaagg ccggccgatt 5640

tggctgccga ctatTTTTgc aggtaaaccc atctcatgag catcaatgaa cgtcccgttg 5700
gtatcgcagc gaatgcagct tcggtagacg tcgatggcgt tgtgatgggt gtgtatctct 5760
cgctttatgg gcaagaaatc acgctagatc gagatgatgc gttcctactc ctcgatcgac 5820
ttcaggacgc gttgcgacct caagccaact aagaaccctc cagatgggtct aaacgaggcg 5880
caaactcgct cctgggcctg cgggcgggagc accgaagcgc gagcgaagcg gagcgcgtag 5940
gtggggggagc ctgcgggcag cggcggcgga gccgccgcct tggtaatagg tgatcatcgg 6000
ggccatagca ggtcagagga tgtttttacg atgactcatg ctcaccacgc caagtactga 6060
tg 6062

<210> 103

<211> 6153

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-QC1

<400> 103

gttaacgcat ccgaaacctc caccaccactc acctagtccg acatccgtac cttggaaacc 60
gacctgtatt ggcatttcag ttggacatcg accagtggcg ttgctagggt caagaccatg 120
tccagcccga aggcgtccag actctagcca ccggaggtag tccgggtggcc acatcccgtc 180
gcgcccgaac gtcacgctct tgtgtggcct tcccttggtt tttgcgatca gtggcacacc 240
tctaccgtct gaatttcgag tctggcctcg gctgcgcaca tctcgactg tgacgctgtc 300
aggtcacccg cttcgcggt accagttcct ttcatcgaat cgagcttccg gtgccgccgc 360
gcagctccc tgaccatcct cagattttat ggagtctcgc agtgcctttc gctatctacg 420
tcctcggggt tgctgtcttc gccagggca catccgagtt catgttgtcc ggactcatac 480
cggacatggc ccgtgacctc ggggtttcgg tccccgccgc cggactcctc acctccgcct 540
tcgcggtcgg gatgatcatc ggcgctccgt tgatggctat cgccagcatg cgggtggcccc 600
ggcgacgcgc ccttctgaca ttcctcatca cgttcatgct ggtccacgtc atcggcgcgc 660
tcaccagcag cttcgaggtc ttgctgggtca cacgcatcgt gggagccctc gccaatgccg 720

gattcttggc agtggccctg ggggcggcga tggcgatggt gcccgcgac atgaaagggc 780
gcgccacgtc cgtcctcctc ggcggtgtca cgatcgcacg ttagccgggt gttcccgagg 840
gcgccttcct gggtgaaatg tggggctggc gtgcagcgtt ctgggctgtc gtcgtcatct 900
ccgcccctgc agtgggtggc attatgttcg ccaccccggc cgagccgctt gcagagtcca 960
caccgaatgc caagcgtgaa ctgtcctcac tgcgctcacg caagctccag ctcatgcttg 1020
tcctcggggc gctgatcaac ggcgcaacgt tctgttcgtt cacgtacatg gcgcccacgc 1080
tcaccgacat ctccggtttc gactcccgtt ggattccgtt gctgctgggg ctgttcgggc 1140
tcggatcggt catcgggtgc agcgtcggag gcaggctcgc cgacacccgg ccgttccaac 1200
tgctcgtgtt cgggtccgca gcaactgtga cgggatggat cgtcttcgtt ctacaggcat 1260
cccacccgcg ggtgacattg gtgatgctgt tcgtgcaggc cgctttgtcc ttcgcggctc 1320
gctcgacttt gatctcccag gtgctctacg ccgcccacgc ggcaccgacc ttgggtggat 1380
cgttcgcgac ggccgcgttc aacgtcgggt ctgcactggg accggcgctc ggccgggttg 1440
cgatcggcat gggctctgagc taccgcgccg cgctctggac gagcgccgcg ctggtgacac 1500
tcgcgatcgt catcggcgca gccaccttgt ctctgtggcg gcgaccagcg tctgtccacg 1560
aatctgtccc cgctgacca gaaaccagga tctgtgagtg tggtgactga tctgtgcacg 1620
ctcagcagtc accgcgcgct cgcgtcgtac cgagggccag cgccaacagg tgtgtggagc 1680
tctgcccctg cctctttcac gcgaactcac tgttcagtgc ggcgatacgt gctcgggtgag 1740
ttccactaca gcgaggtacc gagctcgtca ggtggcactt ttcggggaaa tgtgcgcgga 1800
accctatatt gtttattttt ctaaatacat tcaaataatg atccgctcat gagacaataa 1860
ccctgataaa tgcttcaata atattgaaaa aggaagagta tgagtattca acatttcgtt 1920
gtcgccctta ttcccttttt tgcggcattt tgccttcctg tttttgctca ccagaaaacg 1980
ctggtgaaag taaaagatgc tgaagatcag ttgggtgcac gactgggtta catcgaactg 2040
gatctcaaca gcggtaagat ccttgagagt tttcgccccg aagaacgttt tccaatgatg 2100
agcactttta aagttctgct atgtggcgcg gtattatccc gtattgacgc cgggcaagag 2160
caactcggtc gccgcataca ctattctcag aatgacttgg ttgagtactc accagtcaca 2220
gaaaagcatc ttacggatgg catgacagta agagaattat gcagtgtctc cataaccatg 2280
agtgataaca ctgcggccaa cttacttctg acaacgatcg gaggaccgaa ggagctaacc 2340
gcttttttgc acaacatggg ggatcatgta actcgccttg atcgttggga accggagctg 2400
aatgaagcca taccaaacga cgagcgtgac accacgatgc ctgtagcaat ggcaacaacg 2460
ttgcgcaaac tattaactgg cgaactactt actctagctt cccggcaaca attaatagac 2520

tggatggagg cggataaagt tgcaggacca cttctgcgct cggcccttcc ggctggctgg 2580
tttattgctg ataaatctgg agccggtgag cgtgggtctc gcggtatcat tgcagcactg 2640
gggccagatg gtaagccctc ccgtatcgta gttatctaca cgacggggag tcaggcaact 2700
atggatgaac gaaatagaca gatcgctgag atagggtgcct cactgattaa gcattggtaa 2760
ctgtcagacc aagtttactc atatatactt tagattgatt taaaacttca tttttaattt 2820
aaaaggatct aggtgaagat cctttttgat aatctcatga ccaaaatccc ttaacgtgag 2880
ttttcgttcc actgagcgtc agaccccgta gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct 2940
ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgctacc agcggtggtt 3000
tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg taactggctt cagcagagcg 3060
cagatacca atactgttct tctagtgtag ccgtagttag gccaccactt caagaactct 3120
gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc tgccagtggc 3180
gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt taccggataa ggcgagcgg 3240
tcgggctgaa cgggggggtc gtgcacacag ccagcttgg agcgaacgac ctacaccgaa 3300
ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcgccacgc ttcccgaagg gagaaaggcg 3360
gacaggtatc cggtaaaggc cagggtcgga acaggagagc gcacgaggga gcttccaggg 3420
ggaaacgcct ggtatcttta tagtcctgtc gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga 3480
tttttgtgat gctcgtcagg ggggcggagc ctatggaaaa acgccagcaa cgcgcccttt 3540
ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt tctttcctgc gttatcccct 3600
gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gagttagctg ataccgctcg ccgcagccga 3660
acgaccgagc gcagcgagtc agtgagcgag gaagcggaag agcgcccaat acgcaaaccg 3720
cctctccccg cgcgttggcc gattcattaa tgcagctggc acgactagag tccgctgag 3780
gcggcgtagc aggtcagccg cccagcggt ggtcaccaac cgggggtggaa cggcgccggt 3840
atcgggtgtg tccgtggcgc tcattccaac ctccgtgtgt ttgtgcaggt ttcgctgtt 3900
gcagtccctc gcaccggcac ccgcagcgag gggctcacgg gtgccggtgg gtcgactagt 3960
tcagtgatgg tgatgggtgat gctcagagaa tctaagcttg gatccgcggc cgctacgtag 4020
aattcccata tgggtgatgt gatgggtggc catggtatat ctcttctta aagttaaaca 4080
aaattatttc tagacgccgt ccattatacc tctcacgtg acgtgaggtg caagcccgga 4140
cgttccgcgt gccacgccgt gagccgccgc gtgccgtcgg ctccctcagc ccgggcgggc 4200
gtgggagccc gcctcgatat gtacaccga gaagctcca gcgtcctcct gggccgcgat 4260
actcgaccac cagcagca caccgacta acgattcggc cggcgctcga ttcggccggc 4320

gctcgattcg gccggcgctc gattcggccg gcgctcgatt cggccggcgc tcgattcggc 4380
cgagcagaag agtgaacaac caccgaccac gcttcgcgtc tgcgcgccgt acccgacctc 4440
cctcccgcag ctccaagcag ctcccgggag taccgccgta ctcacccgcc tgtgtctacc 4500
atccaccgac gcaaagccca acccgagcac acctcttgca ccaagggtgcc gaccgtggct 4560
ttccgctcgc agggttccag aagaaatcga acgatccagc gcggcaagggt tcaaaaagca 4620
ggggttgggtg gggaggaggt tttgggggggt gtcgccggga tacctgatata ggctttgttt 4680
tgcgtagtcg aataattttc catatagcct cggcgcgtcg gactcgaata gttgatgtgg 4740
gcgggcacag ttgccccatg aaatccgcaa cggggggcgt gctgagcgat cggcaatggg 4800
eggatgcggt gttgcttcgc caccggccgt tcgcgacgaa caacctccaa cgaggtcagt 4860
accggatgag ccgcgacgac gcattggcaa tgcggtacgt cgagcattca ccgcacgcgt 4920
tgctcggatc tatcgtcadc gactgcgac acgttgacgc cgcgatgcgc gcattcgagc 4980
aaccatccga ccatccggcg ccgaactggg tcgcacaatc gccgtccggc cgcgcacaca 5040
tcggatgggtg gctcggcccc aaccacgtgt gccgcaccga cagcgcccga ctgacgccac 5100
tgcgctacgc ccaccgcac gaaaccggcc tcaagatcag cgtcggcggc gatttcgcgt 5160
atggcgggca actgaccaa aaccgattc accccgattg ggagacgac tacggcccgg 5220
ccaccccgta cacattgcgg cagctggcca ccatccacac accccggcag atgccgcgtc 5280
ggcccgatcg ggccgtgggc ctgggcccga acgtcacat gttcgacgcc acccggcgat 5340
gggcataccc gcagtgggtg caacaccgaa acggaaccgg ccgcgactgg gaccatctcg 5400
tcctgcagca ctgccacgcc gtcaacaccg agttcacgac accactgccg ttcaccgaag 5460
tacgcgccac cgcgcaatcc atctccaaat ggatctggcg caatttcacc gaagaacagt 5520
accgagcccg acaagcgcac ctcggtcaaa aaggcggcaa ggcaacgaca ctgcctaac 5580
aagaagccgt ccgaaacaat gcaagaaagt acgacgaaca tacgatgcga gaggcgatta 5640
tctgatgggc ggagccaaaa atccggtgcg ccgaaagatg acggcagcag cagcagccga 5700
aaaattcggt gcctccactc gcacaatcca acgcttggtt gctgagccgc gtgacgatta 5760
cctcggccgt gcgaaagctc gccgtgacaa agctgtcgag ctgcggaagc aggggttgaa 5820
gtaccgggaa atcgccgaag cgatggaact ctcgaccggg atcgtcggcc gattactgca 5880
cgacgcccgc aggcacggcg agatttcagc ggaggatctg tcggcgtaac caagtcagcg 5940
ggttgtcggg ttccggccgg cgctcggcac tcggaccggc cggcggatgg tgttctgcct 6000
ctggcgcagc gtcagctacc gccgaaggcc tgtcatcgac cggcttcgac tgaagtatga 6060
gcaacgtcac agcctgtgat tggatgatcc gctcacgctc gaccgctacc tgttcagctg 6120

ccgcccgtg ggcattgagca acggccaact etc

6153

<210> 104

<211> 6157

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-QC2

<400> 104

gttaacgcat ccgaaacctc caccacctc acctagtccg acatccgtac ctgggaaacc 60
gacctgtatt ggcatttcag ttggacatcg accagtggcg ttgctagggt caagaccatg 120
tccagcccga aggcgtccag actctagcca ccggaggtag tccgggtggc acatcccgtc 180
gcgcccgaac gtcacgtctt tgtgtggcct tcccttgttg tttgcgatca gtggcacacc 240
tctaccgtct gaatttcgag tctggcctcg gctgcgcaca tctcgactg tgacgtgtc 300
aggtcacccg cttcgcggct accagttcct ttcacgaat cgagcttcg gtgccgccgc 360
gcagcctccc tgaccatcct cagattttat ggagtctcgc agtgcctttc gctatctacg 420
tcctcggggt tgctgtcttc gccagggca catccgagtt catgttgctc ggactcatac 480
cggacatggc ccgtgacctc ggggtttcgg tccccgccgc cggactcctc acctccgcct 540
tcgcggtcgg gatgatcatc ggcgctccgt tgatggctat cgccagcatg cgggtggccc 600
ggcgacgcgc cttcttgaca ttctcatca cgttcatgct ggtccacgtc atcggcgcgc 660
tcaccagcag cttcgaggtc ttgctgggtc cacgcacgtg gggagccctc gccaatgccg 720
gattcttggc agtggccctg ggggcggcga tggcgatggt gcccgccgac atgaaagggc 780
gcgccacgtc cgtcctcctc ggcggtgtca cgatcgcatg ttagccggt gttcccgggg 840
gcgccttcct ggggtgaaatg tggggctggc gtgcagcgtt ctgggctgtc gtcgtcatct 900
ccgcccctgc agtgggtggc attatgttcg ccaccccggc cgagccgctt gcagagtcca 960
caccgaatgc caagcgtgaa ctgtcctcac tgcgctcac caagctccag ctcatgcttg 1020
tcctcggggc gctgatcaac ggcgcaacgt tctgttcgtt cacgtacatg gcgcccacgc 1080
tcaccgacat ctccggtttc gactcccgtt ggattccgtt gctgctgggg ctgttcgggc 1140

tcggatcggtt catcggtgtc agcgtcggag gcaggctcgc cgacaccgga ccgttccaac 1200
tgctcgctgt cgggtccgca gcaactgtga cgggatggat cgtcttcgct ctcacggcat 1260
cccaccccg cgtgacattg gtgatgctgt tcgtgcagga cgctttgtcc ttcgcggctg 1320
gctcgacttt gatctcccag gtgctctacg ccgccgacgc ggcaccgacc ttgggtggat 1380
cgttcgcgac ggccgcgttc aacgtcgggt ctgcactggg accggcgctc ggccgggttg 1440
cgatcggcat ggggtctgagc taccgcgcc cgtcttgga gagcgccgc ctggtgacac 1500
tcgcgatcgt catcgccgca gccacctgt ctctgtggcg gcgaccagcg tctgtccacg 1560
aatctgtccc cgcctgacca gaaaccagga tctgtgagt tggtgactga tctgtgcacg 1620
ctcagcagtc accgcgcgct cgcgtcgtac cgagggccag cgccaacagg tgtgtggagc 1680
tctgcccctg cctctttcac gcgaactcac tgttcagtgc ggcgatacgt gctcgggtgag 1740
ttccactaca gcgaggtacc gagctcgtca ggtggcactt ttcggggaaa tgtgcgcgga 1800
accctatatt gtttattttt ctaaatacat tcaaataatgt atccgctcat gagacaataa 1860
ccctgataaa tgcttcaata atattgaaaa aggaagagta tgagtattca acatttcctg 1920
gtcgccctta ttcccttttt tgcggcattt tgccttctcg tttttgctca ccagaaaacg 1980
ctggtgaaag taaaagatgc tgaagatcag ttgggtgcac gagtgggtta catcgaactg 2040
gatctcaaca gcggtgaagat ccttgagagt ttcgccccg aagaacgttt tccaatgatg 2100
agcactttta aagttctgct atgtggcgcg gtattatccc gtattgacgc cgggcaagag 2160
caactcggtc gccgcataca ctattctcag aatgacttgg ttgagtactc accagtcaca 2220
gaaaagcatc ttacggatgg catgacagta agagaattat gcagtgtcgc cataaccatg 2280
agtataaca ctgcggccaa ctacttctg acaacgatcg gaggaccgaa ggagctaacc 2340
gcttttttgc acaacatggg ggatcatgta actcgccttg atcgttggga accggagctg 2400
aatgaagcca taccaaacga cgagcgtgac accacgatgc ctgtagcaat ggcaacaacg 2460
ttgcgcaaac tattaactgg cgaactactt actctagctt cccggcaaca attaatagac 2520
tggtatggagg cggataaagt tgcaggacca cttctgcgct cggcccttcc ggctggctgg 2580
tttattgctg ataaatctgg agccggtgag cgtgggtctc gcggtatcat tgcagcactg 2640
gggccagatg gtaagccctc ccgtatcgta gttatctaca cgacggggag tcaggcaact 2700
atggatgaac gaaatagaca gatcgtgag ataggtgcct cactgattaa gcattggtaa 2760
ctgtcagacc aagtttactc atatatactt tagattgatt taaaacttca tttttaattt 2820
aaaaggatct aggtgaagat cctttttgat aatctcatga ccaaaatccc ttaacgtgag 2880
tttcgttcc actgagcgtc agaccccgta gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct 2940

ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgctacc agcgggtggtt 3000
tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg taactggctt cagcagagcg 3060
cagataccaa atactgttct tctagtgtag ccgtagttag gccaccactt caagaactct 3120
gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc tgccagtggc 3180
gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt taccggataa ggcgagcg 3240
tcgggctgaa cgggggggtt gtgcacacag ccagcttg agcgaacgac ctacaccgaa 3300
ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcgccacgc ttcccgaagg gagaaaggcg 3360
gacaggtatc cggtaagcgg cagggtcgga acaggagagc gcacgaggga gcttccaggg 3420
ggaaacgcct ggtatcttta tagtctgtc gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga 3480
tttttgtgat gctcgtcagg ggggcgagc ctatggaaaa acgccagcaa cgggccttt 3540
ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt tctttcctgc gttatcccct 3600
gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gagtgaactg ataccgctcg ccgagccga 3660
acgaccgagc gcagcgagtc agtgagcgag gaagcggaag agcgccaat acgcaaaccg 3720
cctctccccg cgcgttggcc gattcattaa tgcagctggc acgactagag tccgctgag 3780
gcgcgtagc aggtcagccg cccagcggg ggtcaccaac cggggtggaa cggcgccgg 3840
atcgggtgtg tccgtggcgc tcattccaac ctccgtgtgt ttgtgcagg ttcgctgtt 3900
gcagtccctc gcaccggcac ccgcagcgag gggctcacgg gtgccgggtg gtcgactagt 3960
tcagtgatgg tgatgggtgat gctcgagaga tctaagcttg gatccgcggc cgctacgtag 4020
aattcccatg gcgtgatggt gatgggtgat gcccatatgt atatctcctt cttaaagtta 4080
aacaaaatta tttctagacg ccgtccatta tacctcctca cgtgacgtga ggtgcaagcc 4140
cggacgttcc gcgtgccacg ccgtgagccg ccgcgtgccg tcggctccct cagcccgggc 4200
ggcgtggga gccgcctcg atatgtacac ccgagaagct ccagcgtcc tcctgggccc 4260
cgatactcga ccaccacgca cgcacaccgc actaacgatt cggccggcgc tcgattcggc 4320
cggcgctcga ttcggccggc gctcgattcg gccggcgctc gattcggccg gcgctcgatt 4380
cggccgagca gaagagtga caaccaccga ccacgcttcc gctctgcgcg ccgtaccoga 4440
cctacctccc gcagctcgaa gcagctccc ggagtaccgc cgtactcacc cgctgtgct 4500
caccatccac cgacgcaaag cccaaccga gcacacctt tgcaccaagg tgccgaccgt 4560
ggctttccgc tcgcagggtt ccagaagaaa tcgaacgatc cagcgcgga aggttcaaaa 4620
agcaggggtt ggtggggagg aggttttggg ggggtgtgcc gggatacctg atatggcttt 4680
gttttgcgta gtcgaataat tttccatata gcctcggcgc gtcggactcg aatagttgat 4740

gtgggcgggc acagttgccc catgaaatcc gcaacggggg gcgtgctgag cgatcggcaa 4800
 tgggcgggatg cggtgttgct tccgcaccgg ccgttcgcga cgaacaacct ccaacgaggt 4860
 cagtaccgga tgagccgcga cgacgcattg gcaatgcggt acgtcgagca ttcaccgcac 4920
 gcgttgctcg gatctatcgt catcgactgc gatcacgttg acgccgcgat gcgcgcattc 4980
 gagcaaccat ccgaccatcc ggccgcgaac tgggtcgcac aatcgccgtc cggccgcgca 5040
 cacatcggat ggtggctcgg cccaaccac gtgtgccga ccgacagcgc ccgactgacg 5100
 ccactgcgct acgcccacgc catcgaaacc ggccctcaaga tcagcgtcgg cggcgatttc 5160
 gcgtatggcg ggcaactgac caaaaacccg attcaccgcg attgggagac gatctacggc 5220
 ccggccaccc cgtacacatt gcggcagctg gccaccatcc acacaccccg gcagatgccg 5280
 cgtcggcccg atcgggcccgt gggcctgggc cgcaacgtca ccatgttcga cgccacccgg 5340
 cgatgggcat accgcagtg gtggcaacac cgaaacggaa ccggccgcga ctgggacct 5400
 ctctcctgc agcactgcca cgccgtcaac accgagttca cgacaccact gccgttcacc 5460
 gaagtacgcg ccaccgcgca atccatctcc aaatggatct ggcgcaattt caccgaagaa 5520
 cagtaccgag ccgcacaagc gcatctcggg caaaaaggcg gcaaggcaac gacactcgcc 5580
 aaacaagaag ccgtccgaaa caatgcaaga aagtacgacg aacatacgat gcgagaggcg 5640
 attatctgat gggcggagcc aaaaatccgg tgcgccgaaa gatgacggca gcagcagcag 5700
 ccgaaaaatt cggtgcctcc actcgcacaa tccaacgctt gtttgctgag ccgcgtgacg 5760
 attacctcg ccgtgcgaaa gctcgccgtg acaaagctgt cgagctgcgg aagcaggggt 5820
 tgaagtaccg ggaaatcgcc gaagcgatgg aactctcgac cgggatcgtc ggccgattac 5880
 tgcacgacgc ccgcaggcac ggcgagattt cagcggagga tctgtcggcg taaccaagtc 5940
 agcgggttgt cgggttccgg ccggcgctcg gcactcggac cggccggcgg atggtgttct 6000
 gcctctggcg cagcgtcagc taccgccgaa ggccctgtcat cgaccggctt cgactgaagt 6060
 atgagcaacg tcacagcctg tgattggatg atccgctcac gctcgaccgc tacctgttca 6120
 gctgccgccc gctgggcatg agcaacggcc aactctc 6157

<210> 105

<211> 6227

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:vector pNit-RC1

<400> 105

gttaacgcat ccgaaacctc caccacctc acctagtccg acatccgtac cttggaaacc 60
gacctgtatt ggcatctcag ttggacatcg accagtggcg ttgctagggt caagaccatg 120
tccagcccga aggcgtccag actctagcca ccggaggtag tccgggtggcc acatcccgtc 180
gcgcccgaac gtcacgtctt tgtgtggcct tcccttggtt tttgcgatca gtggcacacc 240
tctaccgtct gaatttcgag tctggcctcg gctgcgcaca tctcgactg tgacgtgtc 300
aggtcaccog cttcgcggct accagttcct ttcacgaat cgagcttcg gtgccgccgc 360
gcagcctccc tgaccatcct cagatcttat ggagtctcg agtgccttc gctatctacg 420
tctcggggt tgctgtcttc gccagggca catccaggtt catgttgtcc ggactcatac 480
cggacatggc ccgtgacctc ggggtttcgg tccccgccgc cggactcctc acctccgcct 540
tcgcggtcgg gatgatcatc ggcgctccgt tgatggctat cgccagcatg cggtggtccc 600
ggcgacgcgc cttcttgaca ttcctcatca cgttcatgct ggtccacgtc atcggcgcg 660
tcaccagcag cttcagagtc ttgctgggtc cacgcacgtt gggagccctc gccaatgccg 720
gattcttggc agtggccctg ggggcggcga tggcgatggt gcccgccgac atgaaagggc 780
gcgccacgtc cgtcctcctc ggcgggtgtc cgatcgcatg ttagccggt gttccgggg 840
gcgccttcct ggggtgaaatg tggggctggc gtgcagcgtt ctgggctgtc gtcgtcatct 900
ccgcccctgc agtgggtggc attatgttcg ccacccggc cgagccgctt gcagagtcca 960
caccgaatgc caagcgtgaa ctgtcctcac tgcgctcacg caagctccag ctcagtctt 1020
tcctcggggc gctgatcaac ggcgcaacgt tctgttcgtt cacgtacatg gcgccacgc 1080
tcaccgacat ctccggttct gactcccgtt ggattccgtt gctgctgggg ctgttcgggc 1140
tcggatcgtt catcgggtgc agcgtcggag gcaggctcgc cgacaccgg ccgttccaac 1200
tgctcgtgt cgggtccgca gcaactgttg cgggatggat cgtcttcgt ctcacggcat 1260
cccacccgc ggtgacattg gtgatgctgt tcgtgcagg cgctttgtcc ttcgcggctc 1320
gctcgacttt gatctcccag gtgctctacg ccgccgacgc ggcaccgacc ttgggtggat 1380
cgctcgcgac ggccgcgttc aacgtcgggt ctgcaactgg accggcgctc ggcgggttg 1440
cgatcggcat ggggtctgagc taccgcgcc cgctctggac gagcgccgc ctggtgacac 1500
tcgcgatcgt catcggcgca gccacctgt ctctgtggcg gcgaccagc tctgtccacg 1560

aatctgtccc cgcctgacca gaaaccagga tctgtgagtg tgggtgactga tctgtgcacg 1620
ctcagcagtc accgcgcgct cgcgtcgtac cgagggccag cgccaacagg tgtgtggagc 1680
tctgcccctg cctctttcac gcgaactcac tgttcagtgc ggcgatacgt gctcggtag 1740
ttccactaca gcgaggtacc gagctcgtca ggtggcactt ttcggggaaa tgtgcgcgga 1800
accctatatt gtttattttt ctaaatacat tcaaatatgt atccgctcat gagacaataa 1860
ccctgataaa tgcttcaata atattgaaaa aggaagagta tgagtattca acatttcctg 1920
gtcgccctta ttcccttttt tgcggcattt tgccttcctg tttttgctca ccagaaaacg 1980
ctggtgaaag taaaagatgc tgaagatcag ttgggtgcac gagtgggtta catcgaactg 2040
gatctcaaca gcggtgaagat ccttgagagt ttcgccccg aagaacgttt tccaatgatg 2100
agcactttta aagttctgct atgtggcgcg gtattatccc gtattgacgc cgggcaagag 2160
caactcggtc gccgcataca ctattctcag aatgacttgg ttgagtactc accagtcaca 2220
gaaaagcatc ttacggatgg catgacagta agagaattat gcagtgtctgc cataaccatg 2280
agtataaca ctgcggccaa cttacttctg acaacgatcg gaggaccgaa ggagctaacc 2340
gcttttttgc acaacatggg ggatcatgta actcgccttg atcgttggga accggagctg 2400
aatgaagcca taccaaacga cgagcgtgac accacgatgc ctgtagcaat ggcaacaacg 2460
ttgcgcaaac tattaactgg cgaactactt actctagctt cccggcaaca attaatagac 2520
tggtatggagg cggataaagt tgcaggacca cttctgcgct cggcccttcc ggctggctgg 2580
tttattgctg ataaatctgg agccggtgag cgtgggtctc gcggtatcat tgcagcactg 2640
gggccagatg gtaagccctc ccgtatcgta gttatctaca cgacggggag tcaggcaact 2700
atggatgaac gaaatagaca gatcgtgag ataggtgcct cactgattaa gcattggtaa 2760
ctgtcagacc aagtttactc atatatactt tagattgatt taaaacttca tttttaattt 2820
aaaaggatct aggtgaagat cttttttgat aatctcatga ccaaattccc ttaacgtgag 2880
ttttcgttcc actgagcgtc agaccccgta gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct 2940
ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa aaaaaaaaaac caccgctacc agcgggtggtt 3000
tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg taactggctt cagcagagcg 3060
cagataccaa atactgttct tctagtgtag ccgtagttag gccaccactt caagaactct 3120
gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc tgccagtggc 3180
gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt taccggataa ggcgagcg 3240
tcgggtgaa cgggggggtc gtgcacacag ccagcttgg agcgaacgac ctacaccgaa 3300
ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcgccacgc ttcccgaagg gagaaaggcg 3360

gacaggtatc cggtaagcgg cagggtcggg acaggagagc gcacgaggga gcttccaggg 3420
ggaaacgcct ggtatcttta tagtcctgtc gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga 3480
tttttgtgat gctcgtcagg ggggcggagc ctatggaaaa acgccagcaa cgcggccttt 3540
ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt tctttcctgc gttatcccct 3600
gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gagtgagctg ataccgctcg ccgcagccga 3660
acgaccgagc gcagcgagtc agtgagcgag gaagcgggaag agcgcccaat acgcaaaccg 3720
cctctccccg cgcgttggcc gattcattaa tgcagctggc acgactagag tcccgtgag 3780
gcggcgtagc aggtcagccg cccagcgggt ggtcaccaac cggggtggaa cggcgccgggt 3840
atcgggtgtg tccgtggcgc tcattccaac ctccgtgtgt ttgtgcaggt ttgcgtgtt 3900
gcagtccctc gcaccggcac ccgcagcgag gggctcacgg gtgccggtgg gtcgactagt 3960
tcagtgatgg tgatggtgat gctcgagaga tctaagcttg gatccgcggc cgctacgtag 4020
aattcccata tggatgatgg gatggtggcc catggtatat ctcttctta aagttaaaca 4080
aaattatttc tagacgccgt ccattatacc tcctcacgtg acgtgaggtg caagcccggga 4140
cgttccgcgt gccacgccgt gagccgccgc gtgccgtcgg ctccctcagc ccgggcggcc 4200
gtgggagccc gcctcgatat gtacaagcat ggggactcgc cgcggactag cggcttcccg 4260
acacgccgta ctgaccagca gatcagcgat aaacgctgtt tctgctgggt aagtggataa 4320
aaaccaaata atcgatgaac ctcgaaagtgg agtatccgag ctgaactagc tggatttact 4380
ccgaaaatac gagcggcgac gaagggtgtt ggaccaccct gccgccgcct tcgaggctcc 4440
tacttgacta ggaccccgct cgttatgacc agcgtaagtg ctgaacacct ttccggcaaa 4500
gaccggcccc ctgtcctcgt gtcgtccgat aagcgcggca tccggcacga acttcgaccc 4560
aaacttcaac aaatcaccac gtcagaaact tttaatgcgt gcggccggcc gatttccggc 4620
gtgaacggtg tgaccatcgt caacggtccc aaaggttccg gatttggagg ccttcgctcc 4680
tgcggaaagg gctggatctg cccctgctgt gcgggaaaag tcggcgacac tcgagcagac 4740
gaaatttctc aagttgttgc tcatcaactc gggactggat ctgttgcat ggtgaccatg 4800
accatgcgc ataccgctgg gcagcgtttg catgatttgt ggactggact ttccggcagcc 4860
tggaagctg cgaccaatgg ccgccgatgg cgtaccgaac gtgaaatgta cggctgcgac 4920
ggatacgtac gagctgttga aatcactcac ggaaaaaacg gttggcacgt tcacgtccac 4980
gctctactca tggtcagcgg tgacgtgagt gagaacatcc tcgaatcctt ctccgatgcg 5040
atgttcgatc ggtggacctc caaactcgtg tctctgggat ttgctgcgcc actacgtaat 5100
tcagggtggac tcgacgtaag aaagattggt ggagaagctg accaagttct cgctgcatac 5160

ctgacgaaaa ttgcatccgg ggtcggcatg gaagtccgca gtggcgacgg aaaaagtgggt 5220
 cggcacggca accgtgcacc ttgggaaatc gccgttgatg cagtcggagg agatccacaa 5280
 gcgttggaaac tctggcgcgga gtttgagtgc ggttcgatgg gacgccgagc aatcgcatgg 5340
 tctcgtggac tgcgcgcccc agctgggtctt ggcgtagaac tcacggatgc tcagattgtc 5400
 gaacaggaag aatctgcccc ggtcatgggtt gcgatcattc cggctcggtc ctggatgatg 5460
 attcggaaact gtgcgcctta cgttttcgga gagatccttg gactcgtgga agcgggcgcg 5520
 acctgggaaa accttcgtga ccacttgcat tatcgattgc ctgcagcgga tgtgcggcct 5580
 ccgataatat cgattcgtaa gtgaaatgtc ttggtgtgca acaactttca ctcgatgaa 5640
 ccacacttga gggcatcccc ccgatacttg ccgctttgaa gctgggtgtc tctctgtcag 5700
 ggctgcgata gcaccgcgta gcggccttggc cttgacagag agacggcctg tttcatgggt 5760
 ggtctcgggg ggctgaccgg gcagatagaa aaaggccggc cgatttggct gccgactatt 5820
 tttgcaggta aaccatctc atgagcatca atgaacgtcc cgttggtatc gcagcgaatg 5880
 cagcttcgggt agacgtcgat ggcgttgtga tgggtgtgta tctctcgctt tatgggcaag 5940
 aaatcacgct agatcgagat gatgcgttcc tactcctcga tcgacttcag gacgcgttgc 6000
 gacctcaagc caactaagaa ccctccagat ggtctaaacg aggcgcaaac tcgctcctgg 6060
 gcctgcgggc ggagcaccga agcgcgagcg aagcggagcg cgtaggtggg ggagcctgcg 6120
 ggcagcggcg gcggagccgc cgccttggta ataggtgatc atcggggcca tagcaggtca 6180
 gaggatgttt ttacgatgac tcatgctcac cagccaagt actgatg 6227

<210> 106

<211> 6231

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: vector pNit-RC2

<400> 106

gttaacgcat ccgaaacctc caccaccactc acctagtccg acatccgtac cttggaaacc 60
 gacctgtatt ggcatttcag ttggacatcg accagtggcg ttgctagggt caagaccatg 120

tccagcccga aggcgtccag actctagcca ccggaggtag tccggtggcc acatcccgtc 180
gcgcccgaac gtcacgctct tgtgtggcct tcccttggtg ttgcgatca gtggcacacc 240
tctaccgtct gaatttcgag tctggcctcg gctgcgcaca tctcgactg tgacgctgtc 300
aggtcacccg cttcgcggt accagttcct ttcacgaat cgagcttcg gtgcgcgcgc 360
gcagcctccc tgaccatcct cagattttat ggagtctcgc agtgcctttc gctatctacg 420
tcctcgggct tgctgtcttc gccaggga catccaggt catgttgtcc ggactcatac 480
cggacatggc ccgtgacctc ggggtttcgg tccccgcgc cggactcctc acctccgcct 540
tcgcggtcgg gatgatcatc ggcgtccgt tgatggctat cgcagcatg cgggtggccc 600
ggcgacgcgc cttctgaca ttctcatca cgttcagt ggtccacgtc atcggcgcgc 660
tcaccagcag cttcgaggtc ttgctggtca cagcatcgt gggagccctc gccaatgccg 720
gattcttggc agtggccctg gggcggcga tggcgatggt gcccgccgac atgaaagggc 780
gcgccacgtc cgtcctcctc ggcggtgtca cgatcgcatg ttagccggt gttcccgggg 840
gcgccttcct gggtgaaatg tggggctggc gtgcagcgtt ctgggctgtc gtcgtcatct 900
ccgcccctgc agtgggtggc attatgttcg ccacccggc cgagccgctt gcagagtcca 960
caccgaatgc caagcgtgaa ctgtcctcac tgcgtcacg caagctccag ctcatgcttg 1020
tcctcggggc gctgatcaac ggcgcaacgt tctgttcgtt cacgtacatg gcgccacgc 1080
tcaccgacat ctccggtttc gactccggtt ggattccgtt gctgctgggg ctgttcgggc 1140
tcggatcgtt catcgggtgc agcgtcggag gcaggctcgc cgacaccgg ccgttccaac 1200
tgctcgctgt cgggtccgca gcaactgtga cgggatggat cgtcttcgt ctcacggcat 1260
ccaccccg cgtgacattg gtgatgctgt tcgtgcagg cgctttgtcc ttcgcggtcg 1320
gctcgacttt gatctcccag gtgctctacg ccgccgacgc ggcaccgacc ttgggtggat 1380
cgttcgcgac ggccgcgttc aacgtcgggt ctgcactggg accggcgctc ggccgggttg 1440
cgatcggcat ggggtctgagc taccgcgcc cgctctggac gagcgccgcg ctggtgacac 1500
tcgcgatcgt catcggcgca gccacctgt ctctgtggcg gcgaccagcg tctgtccacg 1560
aatctgtccc cgcctgacca gaaaccagga tctgtgagtg tgggtgactga tctgtgcacg 1620
ctcagcagtc accgcgcgt cgcgtcgtac cgagggccag cgccaacagg tgtgtggagc 1680
tctgccctg cctctttcac gcgaactcac tgttcagtgc ggcgatacgt gctcgggtgag 1740
ttccactaca gcgaggatc gagctcgtca ggtggcactt ttcggggaaa tgtgcgcgga 1800
acccctatct gtttatcttt ctaaatacat tcaaataatgt atccgctcat gagacaataa 1860
ccctgataaa tgcttcaata atattgaaaa aggaagagta tgagtattca acatttcggt 1920

gtcgccctta ttcccttttt tgcggcattt tgccttcctg tttttgctca cccagaaacg 1980
ctggtgaaag taaaagatgc tgaagatcag ttgggtgcac gagtgggtta catcgaactg 2040
gatctcaaca gcggtaatgat ccttgagagt tttcgccccg aagaacgttt tccaatgatg 2100
agcactttta aagttctgct atgtggcgcg gtattatccc gtattgacgc cgggcaagag 2160
caactcggtc gccgcataca ctattctcag aatgacttgg ttgagtactc accagtcaca 2220
gaaaagcatc ttacggatgg catgacagta agagaattat gcagtgtgc cataaccatg 2280
agtgataaca ctgcggccaa cttacttctg acaacgatcg gaggaccgaa ggagctaacc 2340
gcttttttgc acaacatggg ggatcatgta actcgccttg atcgttggga accggagctg 2400
aatgaagcca taccaaacga cgagcgtgac accacgatgc ctgtagcaat ggcaacaacg 2460
ttgcgcaaac tattaactgg cgaactactt actctagctt cccggcaaca attaatagac 2520
tggatggagg cggataaagt tgcaggacca cttctgcgct cggcccttcc ggctggctgg 2580
tttattgctg ataaatctgg agccggtgag cgtgggtctc gcggtatcat tgcagcactg 2640
gggccagatg gtaagccctc ccgtatcgta gttatctaca cgacggggag tcaggcaact 2700
atggatgaac gaaatagaca gatcgtgag ataggtgcct cactgattaa gcattggtaa 2760
ctgtcagacc aagtttactc atatatactt tagattgatt taaaacttca tttttaattt 2820
aaaaggatct aggtgaagat cctttttgat aatctcatga ccaaactccc ttaacgtgag 2880
ttttcgttcc actgagcgtc agaccccgta gaaaagatca aaggatcttc ttgagatcct 2940
ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac caccgctacc agcgggtggtt 3000
tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg taactggctt cagcagagcg 3060
cagataccaa atactgttct tctagtgtag ccgtagttag gccaccactt caagaactct 3120
gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac cagtggctgc tgccagtggc 3180
gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt taccggataa ggcgagcgg 3240
tcgggctgaa cgggggggtc gtgcacacag cccagcttgg agcgaacgac ctacaccgaa 3300
ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcgccacgc ttcccgaagg gagaaaggcg 3360
gacaggtatc cggtaagcgg cagggtcgga acaggagagc gcacgaggga gcttccaggg 3420
ggaaacgcct ggtatcttta tagtctgtc gggtttcgcc acctctgact tgagcgtcga 3480
tttttgatg gctcgtcagg ggggcggagc ctatggaaaa acgccagcaa cgcggccttt 3540
ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt tctttcctgc gttatcccct 3600
gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gactgagctg ataccgctcg ccgcagccga 3660
acgaccgagc gcagcgagtc agtgagcgag gaagcggaag agcgccaat acgcaaaccg 3720

cctctccccg cgcgttggcc gattcattaa tgcagctggc acgactagag tcccgcctgag 3780
gcggcgtagc aggtcagccg cccagcgggt ggtcaccaac cgggggtggaa cggcgccgggt 3840
atcggggtgtg tccgtggcgc tcattccaac ctccgtgtgt ttgtgcaggt ttcgcgtgtt 3900
gcagtccctc gcaccggcac ccgcagcgag gggctcacgg gtgccgggtg gtcgactagt 3960
tcagtgatgg tgatggtgat gctcgagaga tctaagcttg gatccgcggc cgctacgtag 4020
aattcccatg gcgtgatggt gatggtgatg gcccatatgt atatctcctt cttaaagtta 4080
aacaaaatta tttctagacg ccgtccatta tacctcctca cgtgacgtga ggtgcaagcc 4140
cggacgttcc gcgtgccacg ccgtgagccg ccgcgtgccg tcggctccct cagcccgggc 4200
ggccgtggga gccgcctcg atatgtacaa gcatggggac tcgccgcgga ctagcggtt 4260
cccgacacgc cgtactgacc agcagatcag cgataaacgc tgtttctgct ggtaagtgg 4320
ataaaaacca aataatcgat gaacctcgaa gtggagtatc cgagctgaac tagctggatt 4380
tactccgaaa atacgagcgg cgacgaaggg tgttggaaca ccctgccgcc gccttcgagg 4440
ctcctacttg actaggaccc cgctcgttat gaccagcgta agtgctgaac acctttccgg 4500
caaagaccgg cccctgtcc tcgtgtcgtc cgataagcgc ggcatccggc acgaacttcg 4560
acccaaactt caacaaatca ccacgtcaga aacttttaat gcgtgcggcc ggccgatttc 4620
cggcgtgaac ggtgtgacca tcgtcaacgg tcccaaaggt tccggatttg gaggccttcg 4680
ctcctgcgga aagggtgga tctgcccctg ctgtgcggga aaagtcggcg cacatcgagc 4740
agacgaaatt tctcaagttg ttgctcatca actcgggact ggatctgttg cgatggtgac 4800
catgaccatg cgccataccg ctgggcagcg tttgcatgat ttgtggactg gactttcggc 4860
agcctggaaa gctgcgacca atggccgcg atggcgtagc gaacgtgaaa tgtacggctg 4920
cgacggatac gtacgagctg ttgaaatcac tcacggaaaa aacggttggc acgttcacgt 4980
ccacgtctta ctcatgttca gcggtgacgt gagtgagaac atcctcgaat cttctcggga 5040
tgcgatgttc gatcgggtgga cctccaaact cgtgtctctg ggatttgctg cgccactacg 5100
taattcaggt ggactcgacg taagaaagat tgggtggagaa gctgaccaag ttctcgctgc 5160
atacctgacg aaaattgcat cgggggtcgg catggaagtc ggcatggcg acggaaaaag 5220
tggtcggcac ggcaaccgtg caccttggga aatcgccgtt gatgcagtcg gaggagatcc 5280
acaagcgttg gaactctggc gcgagtttga gttcggttcg atgggacgcc gagcaatcgc 5340
atggtctcgt ggactgcgcg cccgagctgg tcttggcgta gaactcacgg atgctcagat 5400
tgtcgâacag gaagaatctg ccccggtcat ggttgcgac attccggctc ggtcctggat 5460
gatgattcgg aactgtgcgc cttacgtttt cggagagatc cttggactcg tggaagcggg 5520

cgcgacctgg gaaaaccttc gtgaccactt gcattatcga ttgcctgcag cggatgtgcg 5580
 gcctccgata atatcgattc gtaagtgaat tgtcttggtg tgcaacaact ttactcgtgta 5640
 tgaaccacac ttgaggcat cccccgata cttgccgctt tgaagctggg tgtctctctg 5700
 tcagggtgc gatagcaccg cgtagcggct tggccttgac agagagacgg cctgtttcat 5760
 ggttggtctc ggggggctga ccgggcagat agaaaaaggc cggccgattt ggctgccgac 5820
 tatttttgca ggtaaaccga tctcatgagc atcaatgaac gtcccgttgg tatcgcagcg 5880
 aatgcagctt cggtagacgt cgatggcggt gtgatgggtg tgtatctctc gctttatggg 5940
 caagaaatca cgctagatcg agatgatgcg ttctactcc tcgatcgact tcaggacgcg 6000
 ttgcgacctc aagccaacta agaaccctcc agatggtcta aacgaggcgc aaactcgctc 6060
 ctgggcctgc gggcggagca ccgaagcgcg agcgaagcgg agcgcgtagg tgggggagcc 6120
 tgcgggcagc ggcgggcggag ccgccgcctt ggtaataggt gatcatcggg gccatagcag 6180
 gtcagaggat gtttttacga tgactcatgc tcaccacgcc aagtactgat g 6231

<210> 107

<211> 124

<212> DNA

<213> *Rhodococcus erythropolis*

<220>

<223> mutated TipA gene promoter

<400> 107

cgccccgggt gagggagccg acggcacgcg gcggctcacg gcgtggcacg cggaacgtcc 60
 gggcttgac ctcacgtcac gtgaggaggt ataatggacg gcgtcagaga aggggacggc 120
 catg 124

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/005585

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C12N15/09, C12P21/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C12N15/09, C12P21/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS (DIALOG), MEDLINE (STN), JSTPlus/JST7580 (JOIS), SwissProt/PIR/
GeneSeq, GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Holmes D.J., et al., Autogenous transcriptional activation of a thiostrepton-induced gene in <i>Streptomyces lividans</i> , EMBO J., 1993, Vol.12, No.8, pages 3183 to 3191	1-9
A	Fenton M.S., et al., Function of the bacterial TATAAT-10 element as single-stranded DNA during RNA polymerase isomerization, Proc.Natl.Acad. Sci.USA., 2001, Vol.98, No.16, pages 9020 to 9025	1-9
A	Desomer J. et al., The plasmid-encoded chloramphenicol-resistance protein of <i>Rhodococcus fascians</i> is homologous to the transmembrane tetracycline efflux proteins, Molecular Microbiology, 1992, Vol.6, No.16, pages 2377 to 2385	5-9



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 May, 2004 (18.05.04)

Date of mailing of the international search report

08 June, 2004 (08.06.04)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/005585

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	De Mot. R. et al., Structural analysis of the 6 kb cryptic plasmid pFAJ2600 from Rhodococcus erythropolis NI86/21 and construction of Escherichia coli-Rhodococcus shuttle vectors, Microbiology, 1997, Vol.143, pages 3137 to 1347	5-9
P, A	WO 2004/016792 A1 (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology), 26 February, 2004 (26.02.04), & JP 2004-73032 A	1-9

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. C17 C12N15/09, C12P21/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. C17 C12N15/09, C12P21/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS/WPI (DIALOG), MEDLINE (STN), JSTPlus/JST7580 (JOIS), SwissProt/PIR/GeneSeq, GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Holmes D. J. et al., Autogenous transcriptional activation of a thiostrepton-induced gene in Streptomyces lividans, EMBO J, 1993, Vol. 12, No. 8, pp. 3183-3191	1-9
A	Fenton M. S. et al., Function of the bacterial TATAAT -10 element as single-stranded DNA during RNA polymerase isomerization, Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, Vol. 98, No. 16, pp. 9020-9025	1-9

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

18. 05. 2004

国際調査報告の発送日

08. 6. 2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

七條 里美

4B

2936

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	Desomer J. et al., The plasmid-encoded chloramphenicol-resistance protein of <i>Rhodococcus fascians</i> is homologous to the transmembrane tetracycline efflux proteins, <i>Molecular Microbiology</i> , 1992, Vol.6, No.16, pp.2377-2385	5-9
A	De Mot R. et al., Structural analysis of the 6 kb cryptic plasmid pFAJ2600 from <i>Rhodococcus erythropolis</i> NI86/21 and construction of <i>Escherichia coli</i> - <i>Rhodococcus</i> shuttle vectors, <i>Microbiology</i> , 1997, Vol.143, pp.3137-3147	5-9
P, A	WO 2004/016792 A1 (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology) 2004.02.26 & JP 2004-73032 A	1-9